VISIT…

LANZAROTE Caliente.com

А. Н. Лунный, доктор биологических наук, Москва

Май 2016 г.

НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТЬ ГИПОТЕЗЫ МЭРИ ШВЕЙЦЕР (США) ОБ ОПОСРЕДОВАННОМ ЖЕЛЕЗОМ ГЕМОГЛОБИНА МЕХАНИЗМЕ СОХРАНЕНИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ И ОРГАНИКИ В КОСТЯХ ДИНОЗАВРОВ

Источник: Лунный А.Н. Несостоятельность гипотезы Мэри Швейцер (США) об опосредованном железом гемоглобина механизме сохранения мягких тканей и органики в костях динозавров // В сб.: «Божественное откровение и современная наука. Альманах. Выпуск 5. Изд. 2-е, испр. и дополн. Под общ. ред. к.п.н. Н.Ю. Колчуринского. М., 2016. С. 62–102.

Первичная локализация альманаха в Интернете: сайт Судогодского благочиния «Православие на земле Судогодской». Раздел «Публикации». (http://www.sudogda.ru/public/public70.htm. Дата обращения 27.09.2016.)

Резюме

Представлен критический научный анализ наиболее популярной из известных гипотез о сохранности мягких тканей, сосудов, клеток, фрагментов белков и ДНК в костях динозавров возрастом в «65–80 млн. лет», которая связывает повышение устойчивости биосубстратов с формированием в них молекулярных сшивок за счет окисления железом гемоглобина (Мэри Швейцер с соавторами, США, 2006–2013 гг.).

Обнаружено, что и в теоретическом, и в практическом плане эта гипотеза не соответствует критериям научности для медико-биологических дисциплин (критерии Хилла): ни биологическому правдоподобию, ни полученным ранее данным, ни экспериментальному подтверждению. Основным аргументом против являются накопленные к настоящему моменту данные разных авторов, согласно которым при положительной температуре определяемая ДНК не может сохраняться и 200.000 лет, а белки (кроме остеокальцина) — свыше одного миллиона лет.

Подчеркивается, что окисленные белки в подавляющем большинстве случаев должны распадаться не медленнее, а быстрее. В случае же ингибирования подобных реакций, концентрация окислителя в крови или костях должна достигать абсурдно высоких значений. Продекларированное образование в белках в результате окисления перекрестных сшивок действительно способно удлинять время жизни, к примеру, коллагена, но не на два-три порядка, а, согласно конкретным данным, всего в 1,5–2 раза.

Рассмотрен опыт М. Швейцер с соавторами от 2013 г. по инкубации сосудов современного страуса с гемоглобином, что было выполнено в качестве попытки подтверждения их гипотезы. С позиции формальных стандартов экспериментальных дисциплин показано, что работа имеет многие недостатки в методическом и научно-идеологическом плане, а полученные результаты никак не соответствуют сформулированным в ней выводам.

Сделано заключение, что к настоящему времени отсутствуют какие-либо обоснованные предположения о механизмах, объясняющих сохранность биомолекул и биоструктур в останках с официальными датировками в десятки — сотни миллионов лет. Имеющиеся модельные и экстраполяционные данные таким периодам противоречат. Наиболее правдоподобным, поэтому, является предположение, что официальные датировки завышены минимум на два-три порядка (косвенное свидетельство о молодости Земли).

Ключевые слова: молекулярная палеонтология, сохранность биоструктур и биомолекул в ископаемых останках, железо-гемоглобиновая гипотеза М. Швейцер, молодость Земли.

A.N. Lunarman, Full doctor of science (Biochemistry)

May 2016

FAILURE OF MARY SCHWEITZER (USA) HYPOTHESIS ON IRON-HEMOGLOBIN MEDIATED MECHANISM OF PRESERVATION OF SOFT TISSUE AND ORGANIC MATTER IN THE DINOSAUR BONES

Abstract

A critical scientific analysis of the most popular hypothesis about the preservation of soft tissue, blood vessels, cells, fragments of proteins and DNA in the bones of the dinosaur dated in the '65–80 million years' which links the increasing stability of biological substrates via formation a molecular cross-links due to oxidation by iron hemoglobin (Mary Schweitzer et al., United States, 2006–2013).

It was found that both in theoretically and in practical terms this hypothesis does not meet the scientific criteria for biomedical sciences (Hills criteria): no biological plausibility, no previously obtained data and no experimental confirmation. The main argument against this hypothesis is accumulated now data of different authors, according to at positive temperature determined DNA can not be saved about 200,000 years, and proteins (except osteocalcin) can not be saved about more than one million years.

It is emphasized that the oxidized proteins in most cases should not decompose slower but should decompose faster. In the case of inhibition of such reactions the oxidant concentration in the blood or bone must reach absurd high values. Declare formation of cross-links in proteins by oxidation indeed capable to prolong the lifetime of collagen, for example, but not for two or three orders, and, according to the specific data, only 1.5–2.

The experience of M. Schweitzer and colleagues from 2013 comprising incubating of the modern ostrich vessels with hemoglobin that has been made in an attempt to prove their hypothesis was considered. From the standpoint of the formal standards of experimental sciences it was demonstrated that the work has a lot of shortcomings in the methodological and scientific-ideological terms, and the results of work did not meet the set forth in its conclusions.

It is concluded that, to date, there are no well-founded assumptions about the mechanisms that explain the safety of biomolecules and biological structures in the remains with the official dating of dozens and hundreds millions years. Available modeling and extrapolation data contradict to such periods. The most plausible, therefore, is the assumption that the official dating are inflated for at least two to three orders of magnitude (indirect evidence for small age of the Earth).

Keywords: molecular paleontology, biostructures and biomolecules preservation in fossils, iron-hemoglobin hypothesis of M. Schweitzer, small age of the Earth.

---

1. Вводная часть: краткий обзор современных достижений в области молекулярной палеонтологии и палеогенетики

> *Люди начинали тревожиться, а потом вновь успокаивались; и так несколько раз кряду, пока все не привыкли настолько, что, даже когда разгорелась сильнейшая вспышка... люди начали помаленьку храбриться и, я бы сказал, черстветь..*
>
> Д. Дефо «Дневник чумного года»

Предмет молекулярная палеонтология занимается исследованием органических соединений в ископаемых остатках, включая белки и состоящие из них биологические структуры, в то время как палеогенетика нацелена на идентификацию и изучение фрагментов ДНК и РНК [1–17].

Факты сохранности в останках доисторических животных нестойких органических структур (мягких тканей, сосудов, костного матрикса, неокаменевшей кожи и др.), некоторых клеток (эритроцитов и остеоцитов, т.е. клеток кости), значительных по размеру фрагментов ряда белков и даже ДНК продолжают множиться начиная с первых настоящих открытий 1990-х гг., подтвержденных методами физико-химии и иммунохимии. Подробно данные из области молекулярной палеонтологии и палеогенетики представлены в ряде доступных зарубежных [3, 5, 15–17] и отечественных [1, 2, 4, 6–14] статей, обзоров и монографий. Хотя последние из них увидели свет недавно, тем не менее они не охватывают все соответствующие данные, поскольку дополнительные находки, в том числе в костях динозавров, добавляются год от года [18–27].

Впервые аминокислоты и некоторые пептиды в ископаемых остатках описал в 1950-х гг. Ф. Абельсон (Ph. H. Abelson; США) [8], но настоящими пионерами в области молекулярной палеонтологии динозавров должны считаться, вероятно, польские авторы из Краковского университета под руководством Р. Павлички (R. Pawlicki), которые, начав еще в 1960-х гг. изучать кости ящера с оцененным возрастом в 80 млн. лет [28, 29], в течение более чем 30-ти лет публиковали результаты своих исследований (полный список работ указанных авторов см. в [8]). В образцах костей

динозавра были обнаружены под электронным микроскопом сосудистые каналы, выявлены волокна коллагена и детектированы подобные остеоцитам образования. С помощью иммуногистохимических и др. методов было продемонстрировано наличие в сосудистых стенках окаменевшей кости углеводов, липидов и ДНК. Выявлялись эритроциты динозавра, содержащие железо [8, 28, 29].

Однако использованные этими авторами методы идентификации биомолекул и биоструктур являлись только косвенными. Так, хотя путем иммуногистохимического анализа было показано, что в районе сосудистой стенки находятся остатки углеводов, липидов и ДНК, не было доказательств их эндогенного (т.е. присущего самому образцу) происхождения. Вполне вероятно, что там могли находиться биомолекулы загрязняющих микробов или грибков. Равным образом, сходство неких структур под микроскопом, к примеру, с коллагеновыми тяжами и т.п. совсем не свидетельствовало о том, что в них сохранились исходные биомолекулы, а не произошло диагенетическое замещение оригинального материала минералами с формированием псевдоморф (подробнее этот вопрос разобран нами ранее [8]).

За последующие несколько десятилетий находки в области молекулярной палеонтологии множились (включая идентификацию со специфическими антителами фрагментов различных белков в остатках ископаемых животных [3, 4, 8]), но они оставались в целом малозаметными. Пока к началу — середине 1990-х гг. соответствующими исследованиями не занялись авторы из университета в штате Монтана под руководством в том числе доктора биологических наук (Ph.D.) Мэри Швейцер (Mary Higby Schweitzer). Сейчас эта исследовательница, судя по всему, работает в основном в университете и в музее штата Северная Каролина [30].

В 1997 г. была опубликована статья о нахождении в костях тираннозавра иммуногенных фрагментов гемоглобина [31], а также эритроцитов («Кровь из камня») [16, 32], которая имела широкую известность и была встречена с недоверием (см. в [8, 16]). В 2005–2013 гг. указанные авторы развили находки биоорганики в ископаемых останках еще дальше [17, 21–23, 30, 33–38]. Была расшифрована аминокислотная последовательность значительных по размеру фрагментов коллагена динозавра. Было обнаружено, что в костях весьма многих динозавров («65–80 млн. лет»), после растворения и удаления их минеральной составляющей, идентифицируются сосуды, клетки, мягкие ткани, морфологически мало изменившийся органический костный матрикс, а также остатки ряда неколлагеновых белков [18, 21, 33–39]. Попутно группой М. Швейцер были сделаны находки биоорганики и в ископаемых остатках не динозавров (к примеру [17, 22]).

В настоящее время Мэри Швейцер является, вероятно, ведущим исследователем в области молекулярной палеонтологии и, отчасти, палеогенетики (поскольку было опубликовано утверждение о нахождении в костях динозавра даже ДНК [39]).

Ранее работы по молекулярной палеонтологии и палеогенетике подробно разбирались нами в ряде обзоров на русском языке [4, 6–9], но последние из них охватывали период только до 2009 г. [6, 7, 9]. Помимо них, в Рунете имеются версии соответствующих апологетических публикаций Н.Ю. Колчуринского [10–13]. Некоторые данные были рассмотрены также в одном из разделов монографии И.

Рухленко от 2015 г. [14]. За прошедшее время, как сказано, соответствующие находки весьма умножились (см., к примеру, перечень в [15, 17], а также новые источники [16–27, 30–43]), и факты сохранности в течение «десятков» и даже «сотен миллионов» лет того, что, в принципе, не должно сохраняться в обычных условиях и миллиона лет (см. в [3, 9, 14–17, 20, 30]; подробнее ниже), становились как бы привычной обыденностью, подтверждая слова М. Швейцер еще от 2006 г.: «Множество окаменелостей динозавров могут иметь внутри мягкую ткань» [44].

Параллельно с находками биоорганики в ископаемых остатках возрастом в «десятки миллионов лет» в 1990–2000-х гг. и позже прибавлялись теоретические, модельные, экспериментально-экстраполяционные и просто экстраполяционные исследования некоторых авторов, из которых следовало, что при наиболее благоприятных условиях даже устойчивые полипептиды значительного размера[1] не способны сохраняться при положительной температуре в течение и миллиона лет, а ДНК — и того меньше [20, 45–55]. В том числе — публикации лауреата Нобелевской премии по химии за 2015 г.[2] Томаса Линдаля (Tomas Lindahl) [46, 47]. Так как сосуды, мягкие ткани и костный матрикс состоят из биомолекул, преимущественно коллагена [33–35], то понятно, что все сказанное относится и к ним. Более того, столь сложноорганизованные надмолекулярные, клеточные и тканевые образования по определению должны быть еще более нестабильными.

Названные научные «невозможность» и «возможность», различающиеся на два-три порядка, продолжают жить параллельной жизнью вплоть до настоящего времени.

2. Гипотетические механизмы сохранности биоструктур и фрагментов биомолекул в течение «десятков миллионов» лет: на слуху почти только железо-гемоглобиновая гипотеза Мэри Швейцер

Утро Полины продолжается

Сто миллиардов лет.

В. Бутусов («Наутилус Помпилиус»). «Утро Полины»

Вполне естественно, что многие авторы, которые обнаруживали в ископаемых костях возрастом в «миллионы — десятки миллионов лет» остатки биоорганики (хотя бы по реакции с антителами к специфическим белкам, включая нестабильные альбумин, гемоглобин, иммуноглобулин и др.; см. в [4, 8]), пытались предложить некие физико-химические, геохимические или биохимические механизмы столь удивительной сохранности. Относительно подробно с соответствующими замечаниями они были разобраны нами ранее в обзорах [4, 6–9], но уместно и здесь привести их перечень с комментариями (некоторые — новые).

1) Формирование в процессе распада и разрушения молекулярных связей во время диагенеза специфических биополимеров, устойчивых к дальнейшей деградации.

Комментарий. Трудно сказать, каким образом полимеризация молекул с высокоэнергетическими связями (каковыми являются биомолекулы) приведет к повышению их устойчивости на два-три порядка. Если же брать биополимеры, то ситуация явно обратная: белки менее устойчивы, чем пептиды, а пептиды менее устойчивы, чем аминокислоты. Равным образом — с ДНК, ее короткими последовательностями и нуклеотидами.

2) Стабилизация биомолекул через образование комплексов с органическими продуктами перегноя почвы, в частности, с гуминовыми (гумусовыми) или другими кислотами [2, 56]. Подобные комплексы, полученные и в лабораторных условиях, ингибируют активность расщепляющих ферментов [56, 57].

Комментарий. То же самое: ожидать от комплексов с гуминовыми кислотами удлинения времени полужизни белков и ДНК на два-три порядка слишком оптимистично. Поскольку распад белков и ДНК в течение миллионов — десятков миллионов лет будет обусловлен не только воздействием ферментов, которые и сами вскоре распадутся. И не только микроорганизмов.

3) Быстрое «цементирование» при погребении отложений, что защищает от микробов и кислорода. Этот процесс создает также закрытую систему, предотвращающую распад.

Комментарий. Однако физико-химические процессы распада полипептидов и ДНК при очевидно положительных температурах должны идти и в отсутствии микробов (как смоделировано, к примеру, в [48, 51, 53, 54]), и в отсутствии кислорода.

4) Связывание биологических макромолекул с минеральными субстратами костей и раковин, что повышает их стабильность. Этот механизм сохранения считается одним из наиболее важных. Максимальный эффект ожидается при его сочетании с формированием внутреннего «закрытого кристалла». Принято считать, что белки способны сохраняться долгое время, составляющее даже геологические эпохи, находясь в комплексе с апатитом минерализованных костей. Адсорбция на неорганической матрице предохраняет биомолекулы от воздействия воды, протеолитических ферментов и микроорганизмов.

Комментарий. Такой механизм, конечно, имеет место. Например, для ДНК модельная адсорбция на оксиапатите (минеральная составляющая костей) удлиняла время полужизни (см. в [46]). Правда, всего в два раза [46], но столь малую величину позже связали с тем, что модельная среда представляла собой раствор, а не оригинальную матрицу кости [48]. И действительно, к примеру коллаген в составе интактной высушенной кости (где он находится в тесном комплексе с минеральной матрицей) имеет температуру денатурации 173 °C по сравнению с 94 °C для деминерализванного образца [48, 58]. Адсорбция коллагена на апатите увеличивает период его выживаемости [51, 59].

В работе Collins M.J. et al., 2000 [51] проводили исследование стабильности остеокальцина[3] при 75–95 °C в составе интактной кости и в составе модельной смеси, содержащей все костные компоненты (растворимые и нерастворимые белки, а также апатит), но — вне оригинальной костной структуры[4]. Наша оцифровка

соответствующих графиков для кривых выживаемости остеокальцина при 75°С из [51] (рис. 1) показывает, что период полураспада трех различных эпитопов (узнаваемых антителами) в молекуле указанного белка в составе интактной кости превышает показатель для контрольной смеси приблизительно в 18–145 раз. Казалось бы, эти значения как раз и дают удлинение времени жизни до более чем двух необходимых порядков, но, по оценке тех же авторов, полный распад остеокальцина даже в интактной кости произойдет при 20°С за 580 тыс. лет, а при 10°С — за 7,5 млн. лет [55]. Последняя величина, все же, на порядок меньше датировок для костей динозавров с мягкими тканями, сосудами, костным матриксом, клетками и фрагментами биомолекул [3–19, 21, 22, 25, 27–44, 60, 61]. Следует иметь в виду также, что остеокальцин гораздо устойчивее коллагена, а биоструктуры (мягкие ткани, сосуды и костный матрикс), равно как и клетки, гораздо лабильнее полипептидов.

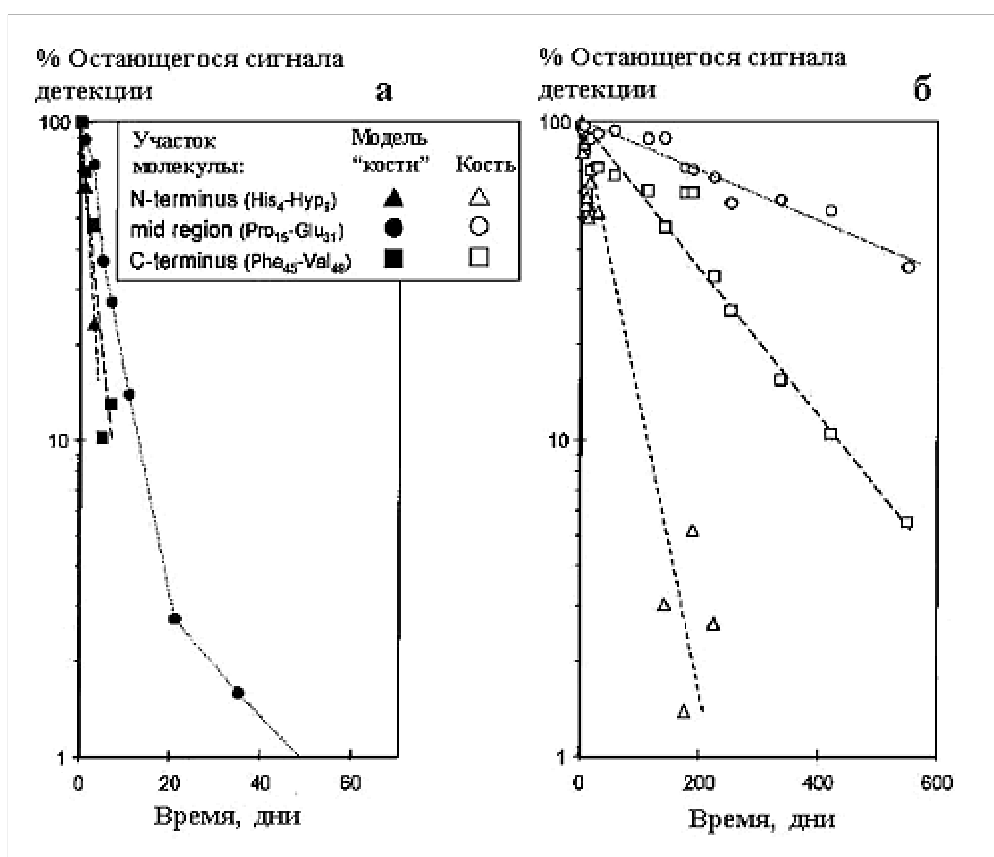


Рис. 1. Кривые распада трех участков молекулы остеокальцина (N-концевого, среднего и С-концевого) при 75°С в составе интактной кости и в смеси, моделирующей кость. Темные и светлые символы (*а* и *б*) — распад в составе модельной смеси и в составе кости соответственно. По оси абсцисс — время распада, дни; по оси ординат — % оставшегося сигнала детекции участков белка. Русифицированный график из [51].

Представляет интерес также некоторое несовпадение с гипотезой стабилизации путем адсорбции на минеральных матрицах кости факта сохранения остеокальцина в

ископаемых неолитических костях. Сохранность основного эпитопа молекулы оказалась обратно пропорциональной кристаллизации апатита образцов кости [51], хотя, казалось бы, все должно быть наоборот: чем минерализованней кость, тем лучше должна сохраняться в ней органика.

* * *

Перечисленные гипотезы, приводимые ранее многими авторами [2, 3, 5, 14, 45, 48–51] (в том числе и нами [4, 6–9]), похоже, стали несколько отходить на второй план. К примеру, в относительно недавних работах Швейцер с соавторами [16, 38, 40], в которых была рассмотрена биоорганика в костях ископаемых животных, точные заключения о механизмах сохранения фрагментов белков, мягких тканей, сосудов и клеток в течение «десятков миллионов лет» отсутствуют [16][5], [38][6], [40][7]. Однако в последних публикациях указанных авторов все же есть разбор прежних гипотез (в частности, про механизм стабилизации за счет связывания с минеральными матрицами [30, 39, 40] и др.), причем превалирующей в данном случае является мысль о необходимости защиты от протеолитических ферментов и микроорганизмов. Что, вновь, не самое главное в плане сохранения структуры полипептидов в течение «десятков миллионов лет».

Но особенно популярной ныне стала последняя, пятая гипотеза[8], которая отличается от прочих большей степенью научного неправдоподобия, если брать критерии естественнонаучных дисциплин (подробнее ниже). Механизм сохранности белков в костях динозавров М. Швейцер с соавторами еще в 2006–2007 гг. связали с повышением их устойчивости за счет образования перекрестных межмолекулярных сшивок в результате окислительных процессов, индуцируемых порфириновым железом гемоглобина. Сначала это предположение было озвучено в 2006 г. на ежегодном форуме Американской ассоциации по продвижению науки (AAAS) в виде презентации М. Швейцер и ее руководителя Дж. Хорнера (Jack Horner) [60]. Затем, в 2007 г., вышла уже статья в журнале Королевского научного общества Великобритании (Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences; Proc. Biol. Sci.), где имелся соответствующий фрагмент, посвященный влиянию индуцированных железом окислительных процессов на сохранность биомолекул и биоструктур [61]. В последние годы М. Швейцер с сотрудниками весьма развили данное построение [30, 39, 40].

И вышло так, что только указанная железо-гемоглобиновая гипотеза о механизме повышения сохранности белков и полипептидов на два-три порядка только и осталась на слуху в общедоступном Интернете. Как в научных источниках, так и в научно-популярной литературе (вкупе с по крайней мере российскими «научно-просветительными» публикациями, вплоть до Википедии), а также в СМИ [62–66].

Дошло до того, что в последнем голливудском фильме из цикла «Парк Юрского периода» («Мир Юрского периода», 2015 г.) группе экскурсантов гид рассказывает, что «вечная» сохранность ДНК в костях связана с воздействием железа, которого много в крови, и т.п.[9]

3. Суть гипотезы Мэри Швейцер об опосредованном железом гемоглобина увеличении времени сохранности биомолекул и биоструктур и попытка ее экспериментального подтверждения

Теперь вся сила в гемоглобине.

И. Ильф, Е. Петров. «Двенадцать стульев»

3.1. *Теоретические предпосылки*

Сохранение биоорганики в течение геологических периодов времени связывается с трансформацией лабильных молекул, клеток и тканей в более стабильные формы за счет полимеризации и/или образования перекрестных межмолекулярных сшивок, поликонденсации белков и/или их кластеризации, а также перекисного окисления липидов мембран [40, 61].

Гипотеза М. Швейцер с соавторами состоит в том, что такие процессы опосредуются посмертным распадом гемоглобина и миоглобина. Железо, входящее в состав порфириновой структуры гема этих белков, находится в восстановленной форме (Fe^{2+}), но после их распада гемовая структура, за счет реакции Фентона[10], окисляется до Fe^{3+} с высвобождением высокореактивных свободных радикалов (активных форм кислорода), среди которых присутствует наиболее агрессивный окислитель — радикал гидроксила. В конечном счете, после реакции перекисей уже с Fe^{3+}, образуются супероксид-радикал и другие активные формы кислорода. Согласно предположению названных исследователей, именно радикалы, генерируемые в результате реакции окисления железа гемоглобина, вносят непосредственный вклад в формирование перекрестных сшивок (cross-link) между липидами клеточных мембран [39, 61][11], а также ковалентных сшивок в молекулах белков (по типу сшивания формальдегидом или глутаровым альдегидом), в особенности коллагена [30, 39, 40, 60, 61]. Внутри- и межмолекулярное сшивание делает подобные молекулы и структуры более устойчивыми к реакциям распада за счет протеолитических ферментов, микроорганизмов и повышает их термостабильность (т.е. устойчивость к процессам термодинамической деградации). Поскольку мягкие ткани и сосуды в костях формируются из белков (в основном коллагена), то, соответственно, сохранность биоструктур также была объяснена воздействием активных форм кислорода [30, 39, 40, 60, 61].

(Впрочем, М. Швейцер с сотрудниками делают оговорку, что одних только опосредованных ионами железа сшивок органических компонентов все же недостаточно для объяснения сохранности мягких тканей в течение геологических периодов времени. Предполагается, что вторая стадия этого процесса — минерализация тканей и клеточных поверхностей через фосфатизацию, сходную с процессом формирования кости, что также стабилизирует биоорганику (см. выше первый абзац в данном разделе) [40, 61].)

Откуда была взята исходно железо-гемоглобиновая гипотеза, долгое время сказать было затруднительно, поскольку в соответствующих публикациях М. Швейцер с

соавторами не было ссылок на, так сказать, «аналоги и прототипы». Как в 2006 г. [60] и в 2007 г. [61], так и в одной из публикаций 2013 г. [30]. Но в статью [39] за 2013 г. указанная информация все же была включена. Согласно предположениям иных авторов, сохранность органической фазы в ископаемых формациях [69] и в морских осадках [70] опосредована связыванием с ионами железа (продуктами деятельности микроорганизмов, утилизующих биосубстраты). Сформировавшиеся комплексы с железом способны затем ингибировать дальнейший распад органики под действием, вновь, микроорганизмов.

Следует отметить, что в работе 2001 г. Р. Петровича (Radomir Petrovich, Оклахома) [69] можно найти практически аналогичную построениям М. Швейцер с соавторами гипотезу о механизме сохранности ископаемой органики под действием ионов Fe^{2+}. Напомним, однако, что первые сообщения подобного рода от М. Швейцер с соавторами увидели свет спустя только 5–6 лет — в 2006 и 2007 гг. [60, 61]. Без ссылок на каких-то предшественников, насколько нам известно[12].

Следует подчеркнуть, что и в случае «аналогов-прототипов» [69, 70], и в случае работ М. Швейцер с сотрудниками [30, 39, 40, 60, 61], главный упор, судя по всему, был сделан на повышение устойчивости биоорганики к распаду протеолитическими ферментами и микроорганизмами[13].

3.2. *Попытка экспериментального подтверждения*

Спустя семь лет после первоначального формулирования гипотезы [60], в 2013 г., вновь в журнале Королевского общества Великобритании[14] М. Швейцер с сотрудниками опубликовали результаты «экспериментального подтверждения» своей гипотезы [30].

1) Было действительно показано, что в деминерализованных образцах кости двух динозавров сосудистые структуры связаны с наночастицами железа. Таким образом, факт комплекса с названным металлом биоорганики в ископаемых костях был налицо, но из этого, понятно, не следовало автоматически, что сохранность белков, из которых состояли те сосуды, сразу возрастает на два-три порядка.

2) Затем авторы провели опыт по инкубации аналогичных сосудистых структур из кости современного страуса в растворе гемоглобина, выделенного из лизата эритроцитов цыпленка (с добавлением туда лизата эритроцитов страуса). В параллельном контроле сосуды страуса инкубировали или в очищенной воде, или в фосфатном буфере (3,75 ммоль/л, pH 7,2). Вначале пробы инкубировали 5 дней при комнатной температуре и в аэробных условиях для моделирования посмертного освобождения в костях железа из гемоглобина. После этого выдерживание сосудистых структур осуществляли как в присутствии кислорода, так и в бескислородной атмосфере (закачивая в пробы аргон). Индикацию состояния препаратов осуществляли под электронным микроскопом, взяв в качестве морфологических реперов толщину сосудистой стенки и некоторые визуально определяемые структуры в сосудах.

Авторы утверждают, что обработанные гемоглобином сосуды из кости страуса оставались практически неизменными после хранения при комнатной температуре в течение 2-х лет, в то время как контрольные препараты были подвержены значительной деградации (в основном микроорганизмами) через три дня. Хотя в самой работе [30] представленные результаты несколько противоречат сделанному заявлению о специфических эффектах именно железа и гемоглобина. Приведенная относительная степень стабилизации для разных условий инкубации имеет следующий вид [26] (Hb — гемоглобин; PBS — фосфатный буфер):

$$\mathrm{Hb} + \mathrm{O}_2 > \mathrm{Hb} - \mathrm{O}_2 = \mathrm{PBS} - \mathrm{O}_2 >> \mathrm{PBS} + \mathrm{O}_2$$

Видно, что по данным самих авторов [30] при отсутствии кислорода никакого эффекта именно Fe^{2+}-гемоглобина по сравнению с буферным раствором нет.

Тем не менее, для М. Швейцер с соавторами гипотеза считается доказанной. Утверждается, что железо и гемоглобин «продлевают жизнь биоструктурам в 240 раз» [30, 40].

4. Научное неправдоподобие железо-гемоглобиновой гипотезы сохранности биоорганики в течение «десятков миллионов лет»

> *«Виктор Михайлович... из обломков устроил стационарный двигатель, который был очень похож на настоящий, но не работал».*
>
> И. Ильф, Е. Петров. «Двенадцать стульев»

4.1. *Критерии установления причинно-следственной связи между двумя событиями в естественнонаучных дисциплинах*

Биологические зависимости не предопределены строго математически. Множество факторов внутренней и внешней среды в клетке, ткани, организме и популяции делают порой невозможным выведение точных, формализованных математически следствий из той или иной причины или из действия того или иного агента. Биологические закономерности никогда не детерминированы со 100%-й вероятностью; всегда могут быть исключения. Скажем, даже при самой большой дозе повреждающего агента на культуру клеток при тех или иных условиях могут сохраниться живые клеточные единицы [73]. Конечно, их может сохраниться настолько мало, что этой вероятностью в практическом плане пренебрегают. Но где, порой, точные лимиты подобной градации?

В связи с этим, еще в 1965 г. была предложена совокупность из 9-ти критериев установления причинно-следственной связи между двумя событиями для медико-биологических дисциплин. Они называются критериями Хилла — от имени своего основателя, английского автора А. Бредфорда Хилла (Austin Bradford Hill) [74]. Набрав в Google ключевые слова «Критерии Хилла» каждый может убедиться, что это — основа и краеугольный камень доказательной биологии и медицины. Мы же приведем здесь соответствующую информацию из раздела «Методология исследований

в медико-биологических дисциплинах» зарубежного академического пособия от 2007 г. «Философия науки» [75].

Применительно к нашей теме, актуальными представляются 6–8-й критерии Хилла об установлении причинной связи между явлениями[15]:

6-й. *Биологическое правдоподобие*: существование известного или постулированного механизма, с помощью которого можно, в том числе, объяснить искомую зависимость.

7-й. *Согласованность с биологическими закономерностями и данными предыдущих исследований*: доказательство должно соответствовать фактам, которые рассматриваются как связанные с ним.

8-й. *Экспериментальное подтверждение*, которое демонстрирует, могут ли сходные эффекты наблюдаться в контролируемых экспериментах в модельных системах.

Ниже мы рассмотрим, насколько имеется соблюдение данных критериев для гипотезы М. Швейцер с соавторами.

4.2. *Теория*

На первый взгляд, железо-гемоглобиновая гипотеза выглядит правдоподобно, если брать нижеперечисленные факты, *не рассматривая их углубленно в конкретном и количественном плане*. Но мы-то как раз и рассмотрим их в подобном плане.

1) Окислители, в том числе ионы железа, действительно способны окислять белки и формировать в них ковалентные сшивки (внутри- и межмолекулярные) [68, 76–80]. Но окисленные, денатурированные белки и пептиды — наилучшие субстраты для действия клеточных и бактериальных протеаз. Протеолиз поврежденных, окисленных биомолекул — внутренний механизм, с помощью которого клетка избавляется от нефункциональных биополимеров [78, 79, 81, 82]. Таким образом, чем больше белок будет окислен (в том числе за счет реакций с ионами железа), тем быстрее он распадается [81, 82] (рис. 2).

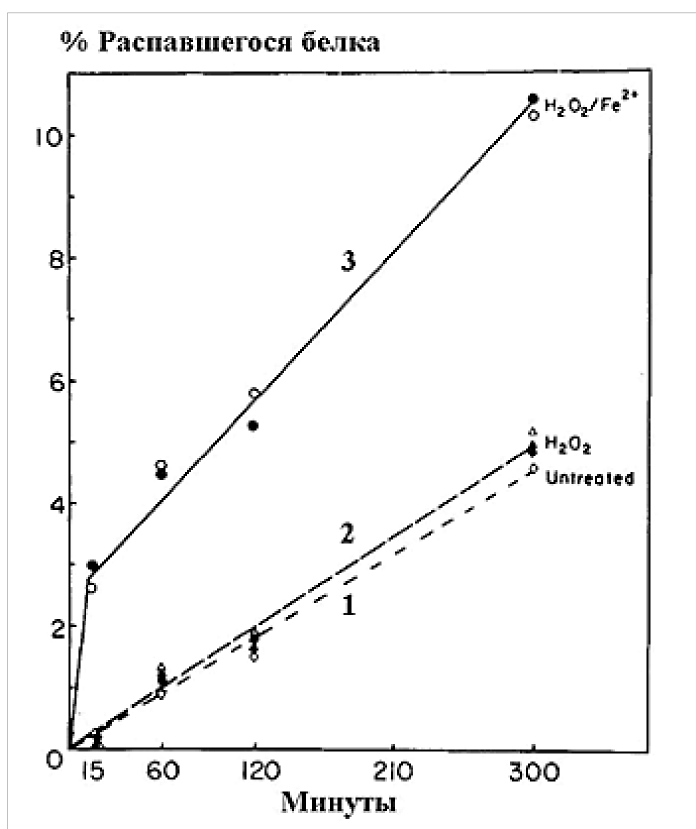


Рис. 2. Пример более интенсивного протеолитического распада белка в случае его окисления перекисью водорода и ионами железа (Fe^{2+}). Казеин инкубировали в экстракте эритроцитов (как источнике протеолитических ферментов) в присутствии и отсутствии ATP (темные и светлые символы соответственно). *1* — контроль; *2* — после окисления перекисью водорода; *3* — после окисления перекисью водорода и ионами железа. По оси абсцисс — время распада, мин; по оси ординат — % распавшегося казеина. Русифицированный график из [81].

Но есть некоторая граница рассмотренного феномена. Когда концентрация окислителя оказывается очень высокой, наблюдается, напротив, ингибирование протеолиза белка, связанное с индукцией чрезмерно большого числа межмолекулярных сшивок, что приводит к формированию крупных нерастворимых белковых агрегатов, менее доступных для протеолитических ферментов [78, 79].

В исследовании [78] приведен полученный экспериментально график зависимости протеолитического распада белка[16] от концентрации в пробе окислителя — перекиси водорода. Зависимость имеет пик: по мере увеличения концентрации перекиси (т.е., по мере окисления белка) сначала резко активируется протеолиз, достигая максимума при порядка 4 мкмоль перекиси на 1 мг белка в пробе. Затем, при более высоком содержании окислителя, протеолиз плавно ингибируется приблизительно вдвое (рис. 3).

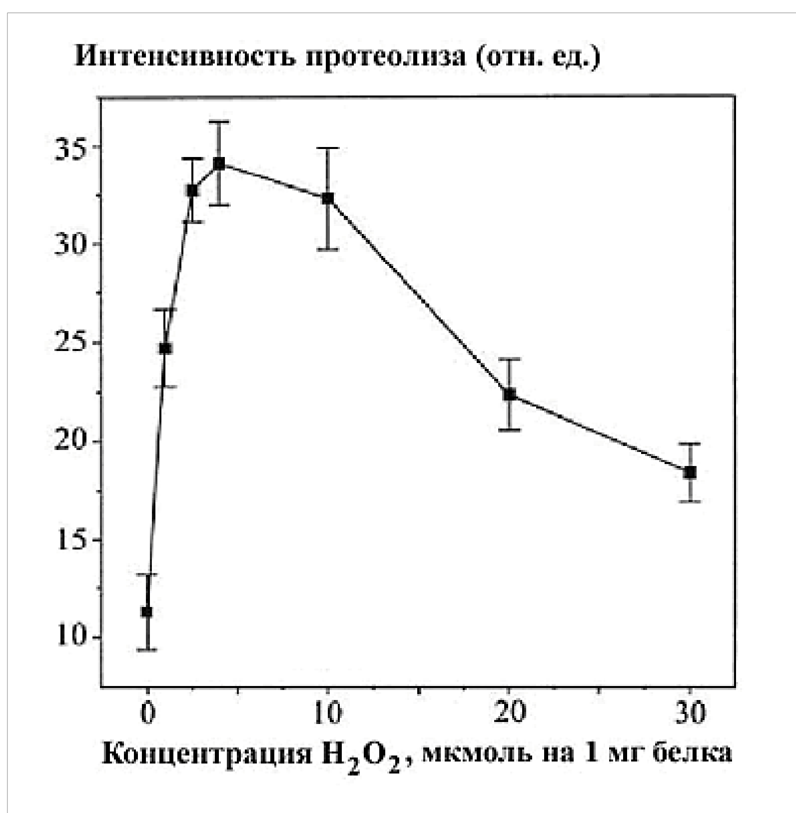


Рис. 3. Пиковая зависимость протеолитического распада белка (РНКаза А; за счет действия 20S протеосомы) от концентрации окислителя (перекиси водорода) в пробе. По оси абсцисс — концентрация перекиси в расчете на 1 мг белка; по оси ординат — интенсивность протеолиза в относительных единицах (конкретно — по концентрации свободных аминов; ммоль в мин на 1 мг протеосомы). Русифицированный график (с нашей упрощающей модификацией единиц для ординаты) из [78].

Но если рассмотреть, что такое концентрация 4 мкмоль перекиси водорода на 1 мг белка в пробирке (т.е., пиковая) для организма, то, к примеру, для цельной крови (порядка 18% белка — 180 мг/мл) это соответствовало бы 720 мкмоль/мл = 0,72 моль/л перекиси. Аптечная перекись водорода (3%; молекулярная масса 34 у.е.) имеет концентрацию 0,88 моль/л. Следовательно, чтобы соблюдался механизм ингибирования протеолитического распада белка при действии перекиси, ее концентрация *в крови* (или в кости) должна быть немногим меньше показателя для аптечного препарата!

Могут заметить, что перекись водорода — не самый серьезный окислитель. Действительно, важным продуктом реакции Фентона является радикал гидроксила — наиболее активный из известных природных окислителей [68, 80, 83]. Но если сравнить стандартные редокс-потенциалы для гидроксильного радикала и перекиси, то разница никак не достигает порядков (2,59 В и 1,78 В соответственно [83]). Таким образом, в реальных условиях организма концентрационная граница уменьшения распада белка все равно не может быть достигнута даже для иона гидроксила.

Локальные микроконцентрации могут быть большими, но на цельную картину в кости это не повлияет, понятно.

Отсюда следует, что никакого правдоподобного механизма биохимического ингибирования протеолитической деградации биомолекул и состоящих из них биоструктур в костях динозавров за счет окисления железа[17] на деле не имеется. Однако именно с устойчивостью к подобному распаду М. Швейцер с соавторами и связывали в первую очередь свою гипотезу и результаты ее экспериментального подтверждения [30].

2) Действительно, формирование внутри- и межмолекулярных сшивок в белках увеличивает их устойчивость к термоденатурации и, таким образом, повышает физико-химическую стабильность как бы «во времени» (показано в том числе для коллагена [85, 86]). Поскольку сразу возникает вопрос о количественной степени повышения, то необходимо рассмотреть конкретные сравнительные данные. Таковые были получены еще в 1990-х гг.; результаты представлены в [48] (рис. 4). Была проведена параллельная инкубация при 37°С и pH 1,6 кетгутовых нитей (саморассасывающиеся в кислой среде хирургические нити из коллагена) двух типов: без ковалентных сшивок и содержащие 64 молекулярные сшивки. Нити со сшивками, в самом деле, распадались дольше, но, согласно приведенному в [48] графику — не более чем в 1,5 раза. Из другого графика в [48] (рис. 5) следует, что даже когда число сшивок достигало порядка 160-ти на структуру, то зависимость распада от времени все равно оставалась монотонной и, экстраполируя кривую на графике, можно убедиться, что сшитый коллаген полностью разложится к 12-му дню по сравнению с порядка 6–7-ю днями для несшитого...

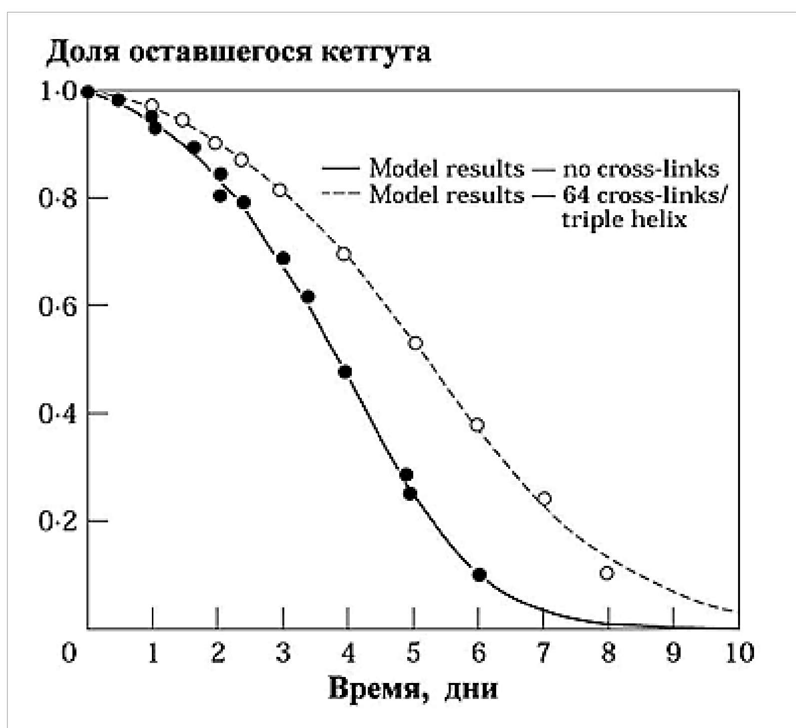


Рис. 4. Распад кетгутовых нитей (хирургические саморассасывающиеся нити из коллагена) при 37°С в

кислой среде (pH 1,6). Сплошная кривая и темные символы — нити без молекулярных ковалентных сшивок; пунктирная кривая и светлые символы — нити, содержащие по 64 сшивки на тройную спираль молекулы. По оси абсцис — время распада, дни; по оси ординат — доля оставшегося кетгута (конкретно — масса оставшейся фракции). Русифицированный график (с нашей упрощающей модификацией единиц для ординаты), представленный в [48] со ссылкой на условия инкубации из Okada T. et al., 1992 [87].

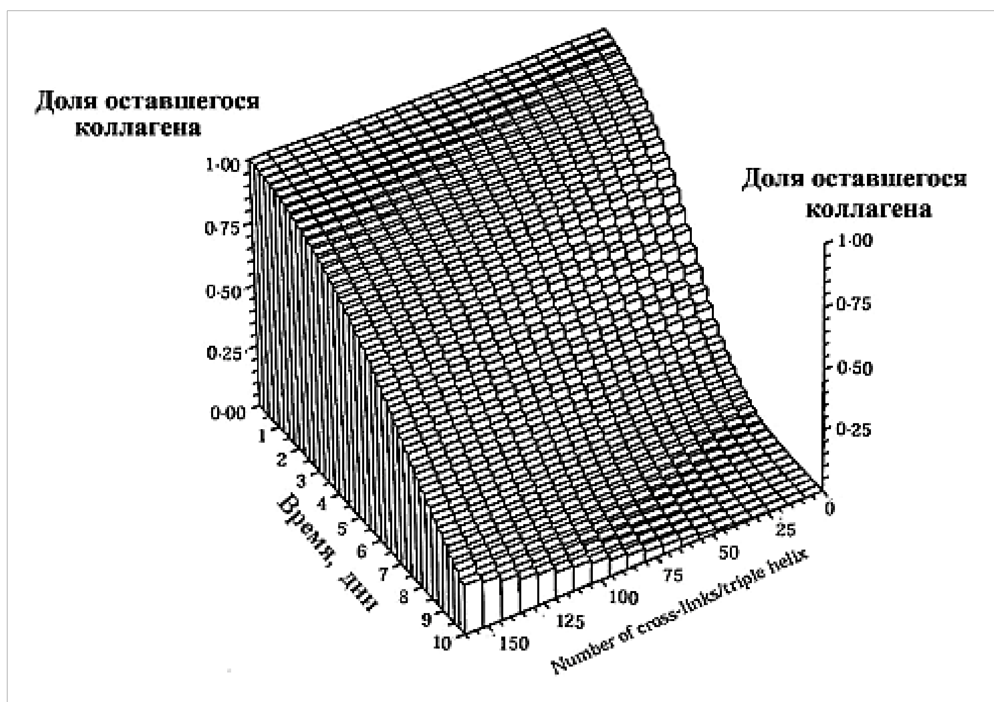


Рис. 5. Эффект увеличения числа молекулярных ковалентных сшивок на «выживаемость» коллагена. Русифицированный трехмерный график (с нашей упрощающей модификацией единиц для ординат) из [48]. По оси абсцисс слева — время распада, дни; справа — число сшивок на тройную спираль молекулы; по осям ординат — доля оставшегося коллагена (конкретно — относительная масса препарата [48]).

Сходные данные получены и в [85] для термостабильности коллагена из хвоста крысы после формирования в нем сшивок путем инкубации с перекисью водорода. И *in vitro*, и *in vivo* время распада коллагена при 42°C для белка с окислительными сшивками возрастало, опять же, всего в два раза.

Понятно, что увеличение времени жизни в 1,5–2 раза — это не два-три порядка величины, которые необходимы для того, чтобы можно было бы поверить в возраст «65–80 млн. лет» [3–19, 22, 25, 27, 30–44, 60, 61] для тех костей динозавров, в

которых нашли мягкие ткани, другие биструктуры и фрагменты биомолекул. Научного правдоподобия и тут не наблюдается.

3) Имеется ряд данных о нахождении для ископаемых животных возрастом в «десятки и сотни миллионов лет» биоорганики в таких образцах, в которых заведомо не может быть железа с гемоглобином или упомянутой выше меди в составе гемоцианинов моллюсков. В работе [15] перечислены подобные находки; есть таковые и в нашем обзоре [8] и в работе Н.Ю. Колчуринского [13]. Как же они сохранились в отсутствие металлов-окислителей и гемоглобина?

4.3. *Эксперимент*

4.3.1. Противоречие гипотезы экспериментальным данным других авторов

Рассмотрим теперь соответствие железо-гемоглобиновой гипотезы сохранности биоорганики в течение «десятков миллионов лет»[18] 7-му и 8-му названным выше критериям Хилла («согласованность с биологическими закономерностями» и «соответствие модельным экспериментам»). Уже говорилось, что неких «аналогов и прототипов» для иллюстративных доказательств железо-гемоглобиновой гипотезы не имеется, за исключением отдельных предположений, что связывание железа с органикой в ископаемых и морских осадках продлевает этой органике жизнь, препятствуя микроорганизмам [69, 70]. Тем не менее, поскольку предмет «молекулярная палеонтология» начал разрабатываться задолго до М. Швейцер, еще в 1990-х гг. и даже ранее делались попытки как-то определить временные лимиты выживаемости биомолекул (белков, ДНК и др.) в ископаемых остатках. На русском языке конкретные данные были разобраны ранее нами [6–9] и И. Рухленко [14].

В целом подобные исследования-экстраполяции единичны. Все они упоминаются в публикациях М. Швейцер [5, 18, 30, 40, 41, 61], но, если брать последние годы, — с заключениями об отсутствии исчерпывающих доказательств [40]:

«[*Выводы работ*] *основаны на экстраполяции, исходящей из распада при нереалистично жестких химических условиях* [49], *на химических моделях, которые не учитывают стабилизирующее влияние тесной ассоциации биомолекул с минеральной составляющей* [54][19], *или же на экстраполяции данных по деградации, полученных для ограниченного набора окаменелостей* [*разного возраста*] [20][20]. *В результате* [*такими авторами*] *сообщения об обнаружении молекулярных биоструктур в окаменелостях возрастом более 100 тыс. лет встречаются со скептицизмом»*[21].

Однако других подобных исследований пока не проводилось. Поэтому, исходя из научных принципов, полученные лимиты выживаемости ископаемой биоорганики, до получения иных результатов, должны считаться некими стандартами.

В целом, методические подходы при проведении соответствующих оценок были двух типов:

а) Инкубация белков, полипептидов и ДНК *in vitro* при различных, порой экстремальных, температурах (к примеру, 75–95°С [51]) и/или pH [48], что стимулирует распад пептидных связей, депуринизацию, рацемизацию, потерю

активных групп и пр., с последующим определением времени полураспада. Затем, путем расчетов и экстраполяций, оценивали величину периода полного распада при тех или иных реальных температурах и pH [46, 48, 50–52, 55].

б) Определение степени сохранности интересующих белков или ДНК в наборе из различных ископаемых остатков с известными датировками с последующим выведением эмпирической кривой полураспада. После этого, опять же, следовала экстраполяция по временной шкале до полного распада [20, 53, 88].

Относительно температур залегания ископаемых остатков можно привести уже упоминавшиеся сведения для Великобритании — такая температура принимается за 10°C [48].

Совокупность имеющихся данных подобного рода для белков и ДНК[22] следующая.

Lindahl T., 1993 [46]. Исследования распада in vitro и экстраполяция.

При обычной температуре ДНК деградирует (гидролиз, депуринизация) до коротких фрагментов за несколько тысяч лет. При очень высокой ионной силе скорость деградации уменьшается в 5–10 раз, а при адсорбции на оксиапатите (минеральной составляющей кости) — еще в два раза. Можно видеть, что в самом благоприятном случаев не получается периода даже в 200 тысяч лет.

Bada J.L. et al., 1999 [50]. Модельные исследования и экстраполяция.

ДНК может сохраняться не более нескольких сотен тысяч лет при низкой температуре и не более нескольких тысяч лет при обычных условиях.

За 10–30 тыс. лет должен произойти распад коллагена, за исключением залегания кости при холодных и сухих условиях.

При большинстве возможных условий окружающей среды на Земле полный гидролиз полипептидов в костях произойдет за 100 тыс. лет — 1 млн. лет; полная рацемизация аминокислот — через 1–5 млн. лет.

Hofreiter M. et al., 2001 [52]. Теоретическая оценка.

Полный гидролиз ДНК при 15°C и нейтральном pH произойдет за 100 тыс. лет. Снижение температуры и установление других более щадящих условий способны значительно продлить жизнь этой биомолекуле, но ожидание сохранности ДНК в течение более чем 1 млн. лет слишком оптимистично.

Smith C.I. et al., 2001 [53]. Оценка по сохранности биомолекул в датированных ископаемых образцах различного возраста с экстраполяцией.

При среднегодовой температуре в 10°C период сохранения ДНК для определения ПЦР составляет 17000 лет. В замороженных образцах интенсивность депуринизации ДНК слабо чувствительна к температуре.

Nielson-Marsh C., 2002 [55] (со ссылкой на оценки M.J. Collins и на [53]). Исследования распада *in vitro* и экстраполяция.

Сохранность ДНК:

При 20°C — 2500 лет;

При 10°C — 17500 лет;

При 0°C — 125 тыс. лет

Сохранность коллагена:

При 20°C — 15 тыс. лет;

При 10°C — 180 тыс. лет;

При 0°C — 2 млн. 700 тыс. лет

Allentoft M.E. et al., 2012 [20]. Оценка по сохранности биомолекул в датированных ископаемых образцах различного возраста с экстраполяцией.

ДНК. Средняя длина остатка через 10 тыс. лет, пар оснований (п.о.):

25°C — 2 п.о.

15°C — 13 п.о.[23]

5°C — 88 п.о.

–5°C — 683 п.о.

Полный распад ДНК до нуклеотидов при 5°C — спустя 882 тыс. лет; при –5°C — через 6 млн. 800 тыс. лет.

Необходимо отметить, конечно, что приведенные выше опыты и экстраполяции сделаны для гидратированных условий, т.е., в присутствии воды, когда основным механизмом распада для белков и ДНК является гидролиз (не считая ферментативного и бактериального воздействия в ранний период) [46, 48, 54]. Стабильность ДНК в ископаемых остатках может увеличиваться в безводных и бескислородных условиях, примером чему служат споры бактерий [46]. Но в составе биомолекул, даже в сухих костях, все равно остается определенное количество воды. В работе [46] сделан специальный акцент на этом моменте: даже в высушенных на воздухе тканях ДНК остается частично гидратированной и все еще способна к гидролитическому распаду. Дело в том, что молекулы воды в желобках двойной спирали несут структурные функции, в связи с чем полностью «сухая» ДНК (высушенная специальным химическим агентом) не может поддерживать конформацию двойной спирали, и это делает ее основания более чувствительными к повреждениям. Полностью «сухая» ДНК чрезвычайно гигроскопична и быстро набирает воду на воздухе [46].

Равным образом, согласно [48], наличие пор даже в окаменевших ископаемых костях приводит к тому, что часть воды присутствует в кости при самых сухих условиях окружающей среды [48, 90]. Эта вода находится в тесном контакте с фибриллами коллагена и костным материалом, что также делает их подверженными гидролизу [48]. Поры в высушенных окаменевших костях настолько малы, что через них не способен проходить даже этанол, но проницаемость для молекул воды все же остается [48].

Таким образом, можно сделать вывод, что какими бы сухими ни казались ископаемые образцы и окружающие их породы, наличие в них воды в контакте с белками и ДНК все равно неизбежно, поэтому приведенные выше лимиты сохранности биоорганики должны в значительной степени оставаться в силе. В особенности с учетом разницы на два-три порядка между этими оценками и реальными возрастами, приписываемыми останкам динозавров и других ископаемых животных. В комментарии на исследование Allentoft M.E. et al., 2012 [20] главной причиной распада биомолекул в костях называется все-таки вода. Указывается, что подземные воды почти повсеместны, поэтому, к примеру, ДНК в ископаемых костях должна распадаться с постоянной скоростью [91].

Наконец, нельзя сбрасывать со счетов также то, что ряд экстраполяций сделаны на реальной основе, т.е. путем определения сохранности биомолекул в наборах реальных ископаемых образцов различного возраста (см. выше) [20, 53]. В том числе — наша оценка выживаемости сверхстойкого остеокальцина [4, 8] согласно данным для различных по датировке древних костей бизонов из [88]. Спустя всего 300 тыс. лет содержание остеокальцина падало до 0,1 мкг (10^{-4} мг) на 1 кг кости бизонов [4, 8].

Все эти реальные ископаемые образцы находились в реальных условиях, в том числе и в плане присутствия воды.

(К тому же, если стоять на формальных позициях, в свете основной темы настоящего обзора ясно, что вопрос о сухих условиях для свободно-радикальной железо-гемоглобиновой гипотезы М. Швейцер с сотрудниками малоактуален: вне растворов или липидной фазы такие реакции не проходят [92].)

Рассматривая факторы, влияющие на распад ископаемой биоорганики, нельзя не остановиться также на радиационном аспекте проблемы, обусловленным вездесущностью радиационного фона Земли вкупе с повсеместным залеганием в породах урана и тория (некоторые источники см. в [8]). Накапливаемые ископаемыми костями за геологические периоды времени дозы облучения, согласно геохимику и астробиологу J.L. Bada (США), не позволяют считать мягкие ткани и биоструктуры в костях динозавров реально пережившими десятки миллионов лет [8, 93]. По нашим оценкам доз радиации, для мягких тканей, костного матрикса, сосудов, клеток и ДНК такое тоже вряд ли возможно, хотя небольшие фрагменты полипептидов и способны выдержать накопленные за теоретические десятки миллионов лет дозы облучения [8] (не учитывая, конечно, что раньше естественный радиационный фон на Земле, как считается, был значительно больше, поскольку многие радионуклиды в то время еще не распались [94]).

В целом из приведенного выше материала следует, что у всех авторов, действительно, при сколь-либо положительной температуре коллаген (один из наиболее стойких белков) и ДНК не могут сохраняться и миллиона лет, причем точнее будет сказать даже — нескольких сотен тысяч лет[24].

Представленные экстраполяционные эксперименты и полученные в них данные пока не позволяют считать гипотезу о том, что железо гемоглобина за счет окисления продлевает жизнь белкам и ДНК до «десятков миллионов лет», «согласованной с

биологическими закономерностями» и «соответствующей результатам модельных опытов». Просто по определению, что тех «десятков миллионов лет» для биомолекул и биоструктур быть не могло.

4.3.2. Методологические и биохимические несуразности в собственном эксперименте М. Швейцер с соавторами

Рассмотрим теперь конкретный эксперимент М. Швейцер с соавторами по инкубации сосудов страуса с лизатом эритроцитов, что, согласно их выводам, «продлевает жизнь препарату в 240 раз» [30] (см. выше подраздел 3.2).

Избегая ныне оценочных суждений, здесь мы все же должны их высказать. С позиции элементарных лабораторных исследований, статья Schweitzer M.H. et al., 2013 [30] выглядит для мало-мальски квалифицированного биохимика какой-то полудилетантской, причем от мелочей до самих выводов. Несмотря на то, что она была напечатана в журнале с высоким импакт-фактором, создается впечатление, что ее рецензенты не работали по-настоящему в области биохимии. Странно и то, что соблюсти элементарное не смогли и сами авторы этой статьи.

Вот перечень очевидных недостатков, вплоть до неполной постановки опыта и некорректной интерпретации полученных результатов. Без устранения этих огрехов в прежние времена материал вряд ли пропустили бы и в отечественный академический журнал «Биохимия».

1) Хотя это и кажется на первых взгляд мелочью, но странно, что ни в самой статье [30], ни в сопутствующем методическом приложении к ней[25], не приведены концентрации ни гемоглобина, ни, соответственно, железа в инкубационной среде. Когда в биохимии что-то инкубируют с чем-то, то всегда дают количественные реперы. В работе [30] (в приложении) указано, что получали сначала лизат эритроцитов, потом, центрифугируя обломки клеток, отбирали надосадочную жидкость с гемоглобином, многократно промывая осадок, чтобы извлечь весь гемоглобин. Затем надосадочную жидкость концентрировали путем ультрафильтрации, попутно обессоливая, чтобы перевести препарат в воду. Объем добавленной последней «соответствовал исходному объему крови». Это — все сведения. Учитывая к тому же формальную экзотичность лизата (почему-то смесь эритроцитов цыпленка и страуса, 5:1 по объему), которую не всякий сможет воспроизвести, тем более надо было указать конечные концентрации действующих веществ в пробах инкубации.

2) В работе [30] в качестве растворителя почему-то часто использовали воду и никак не создавали физиологических условий по ионной силе. В воду переводили препарат гемоглобина, в воде инкубировали в половине случаев сосуды страуса. Так в биохимии тоже обычно не делают, особенно при сравнении эффектов. Какой бы ни была эта очищенная на специальном аппарате вода (возможно, даже с нейтральным pH, дистиллированная же вода обычно слабокислая), она не имеет буферной емкости, и, после помещения в нее различных препаратов и веществ, уровни pH и ионной силы могут оказаться тоже различными. М. Швейцер с сотрудниками [30] использовали три инкубационных системы: сосуды в воде, сосуды в слабом фосфатном буфере (3,75 ммоль/л, pH 7,2) и сосуды в препарате гемоглобина, опять же в воде. Авторы ставили

целью определение влияния именно гемоглобина и железа, но на деле условия во всех случаях были разными и по другим параметрам. В частности, очевидно, что имели место разные условия и по pH, и по ионной силе растворов (к тому же авторы, как сказано, нигде не создавали в плане ионной силы физиологических концентраций NaCl).

Подобного в биохимии не сделает, наверное, даже студент. Если же имелось в виду, что после смерти животного все соли как-то «вымоются» из костей и в них будет поступать только грунтовая вода[26], то все равно подобный опыт бессмысленен, ибо нет возможности точно узнать, сколько же соединений, влияющих на ионную силу, все-таки осталось в костях, и какие почвенные соли содержит эта грунтовая вода.

И как можно интерпретировать результаты, когда сравнивали устойчивость биологических препаратов в гипотонической среде (в воде) с их устойчивостью в достаточно концентрированном растворе белка с явно иным pH и ионной силой? В сопутствующем приложении к [30], как уже отмечалось, имеются сведения об инкубации и в фосфатном буфере (без соли), но результаты ее в самой работе на микрофотографиях не представлены. Соответствующее фото помещено только в приложении. В тексте же самой статьи можно видеть уже приводившуюся выше в подразделе 3.2 цепочку степени сохранности препаратов (повторим: Hb — гемоглобин; PBS — фосфатный буфер):



$$Hb + O_2 > Hb - O_2 = PBS - O_2 >> PBS + O_2$$

Оказывается, степень сохранности в бескислородной среде одинакова что для препарата с гемоглобином, что просто для буферного раствора с нейтральным pH; об этом свидетельствуют и микрофотографии препаратов в приложении к [30]. Плохая же сохранность проб в буфере в аэробной среде объясняется авторами действием грибков и микроорганизмов. Наверное, было иное закупоривание пробирок.

Но ведь исходно, согласно приложению к [30], *все* пробы 5 дней инкубировали аэробно, чтобы, как указывают авторы [30], смоделировать посмертный выход железа из гемоглобина. То есть, доступ кислорода исходно имел место во всех пробах.

3) Странно выглядит отсутствие адекватного контроля по белку для пробы сосудов с гемоглобином. Обычно, когда изучают эффект какой-то компоненты конкретного белка, то параллельно исследуют эффект просто белка как такового. Ведь любой белок в столь значительной концентрации обладает и антиоксидантными свойствами [96], и некой буферной емкостью, и способен изменять ионную силу раствора тоже. Даже его электростатику и вязкость. Не говоря уже о том, что, при хранении, значительная концентрация гемоглобина служила неким бактериальным «щитом», поскольку микроорганизмы могли быть на более длительный срок заняты именно этим белком, а не сосудами. Студент на практикуме по биохимии догадался бы, наверное, что параллельно с пробой сосудов в растворе гемоглобина (эффекты железа из которого исследуют) следовало поставить инкубироваться пробу с сосудами в растворе иного белка (без железа) в аналогичной концентрации. Обычно для этого берут хотя бы распространенный бычий сывороточный альбумин[27]. Однако авторы [30] в качестве

контролей инкубировали сосуды в сильно гипотонических растворах (вода и совсем слабый фосфатный буфер).

В результате, если делать биохимически корректные выводы, осталось так и не ясным, от чего же получилась разница в морфологии хранившихся препаратов. Что это было? Действительно «удлиняющий» стабильность эффект ионов железа? Или просто самого белка в высокой концентрации? Или же «укорачивающий» сосудам жизнь эффект инкубации в безбуферном растворе из воды либо в слабом буфере при нефизиологической ионной силе[28] и pH, когда препараты сосудов, к тому же, сразу «атаковали» грибки и микроорганизмы (в пробах с гемоглобином занявшиеся, может, в первую очередь именно им)? Сказать точно не получится. Однозначная интерпретация результатов авторами, таким образом, научно несостоятельна.

4) В [30], как уже отмечалось, объясняют более длительную сохранность проб с гемоглобином и железом только тем, что при подобных условиях имеется меньший эффект воздействия грибков и микроорганизмов. В специальных экспериментах авторами [30] было показано, что введение в пробы хелаторов железа (связывающих его ионы) делает полипептиды (в этот раз из костей динозавров) более узнаваемыми антителами. М. Швейцер с сотрудниками приходят отсюда к выводу, что, поэтому, и протеазы в отсутствие железа начнут атаковать интенсивнее, в результате чего полипептиды без железа распадутся быстрее. Не говоря уже о том, что данный вывод вовсе не бесспорен (антитела и протеазы способны, теоретически, «узнавать» разные эпитопы белков), можно видеть, что парадигма увеличения длительности жизни сосудов вновь зацикливается не на ингибировании физико-химического и химического распада, а на «сиюминутном» (в плане миллионов лет) действии протеаз и микроорганизмов. Это уже концептуальная нестыковка между глобальными выводами в работе [30] и полученными в ней локальными, к тому же неоднозначно трактуемыми, данными.

Подводя итог подразделу и еще раз отметив методологический и биохимический полудилетантизм рассмотренной «пилотной» работы М. Швейцер с соавторами [30], можно сделать вывод, что она не стоит той рекламы, которую ей создали. Ни положительной [62–66] (см. также выше раздел 2), ни отрицательной, в креационных источниках [14, 97, 98]. Не стоит вместе с исходной гипотезой, не отличающейся ни состоятельностью в теоретическом и экспериментальном плане, ни соответствию научным критериям доказательности в медико-биологических дисциплинах.

5. Заключение[29]

Не имея перед глазами полной картины, не следует делать каких-либо выводов относительно ее частей.

А. Адлер. «Понять природу человека»

Предмет молекулярная палеонтология в целом развивается уже порядка 60-ти лет, но только в последние один-два десятилетия, в связи с развитием физико-химических,

биохимических, молекулярно-биологических и иммунохимических методов исследования, были обнаружены такие находки, которые приобрели всеобщую известность. Основными авторами в области молекулярной палеонтологии стала считаться группа во главе с Мэри Швейцер (США). В костях динозавров возрастом в «65–80 млн. лет» ими были идентифицированы не только значительные по размеру фрагменты различных (в том числе достаточно лабильных) белков, но даже состоящие в основном из коллагена весьма сходные морфологически с современными мягкие ткани, костный матрикс, сосуды, а также два типа клеток — эритроциты и остеоциты. Сходные результаты были получены позже и другими авторами.

Более того, в 2013 г. М. Швейцер с сотрудниками утверждали о нахождении в кости динозавра даже ДНК возрастом в «десятки миллионов лет» [39], хотя аналогичные находки в 1994 г. исследователей из мормонского университета в Юте (кости динозавра возрастом в «80 млн. лет») [99] и пекинских авторов в 1996 г. (яйцо ящера мелового периода) [100] были первая раскритикована [3, 101, 102] (в том числе М. Швейцер [3]), а вторая, похоже, не замечена[30].

С самого начала идентификации ископаемой органики в останках возрастом в сотни тысяч — «десятки миллионов лет» предпринимались попытки предложить физико-химические, геохимические и биохимические механизмы сохранения того, что по всем признакам не должно сохраняться столь долго. Известные в настоящее время объяснения включают посмертное формирование устойчивых полимеров из биомолекул, в том числе за счет связей с гуминовыми соединениями почвы, образование герметичных «внутренних кристаллов» при диагенетической минерализации, защищающих органику от воды, кислорода и микроорганизмов, а также прочная адсорбция белков и ДНК на апатите костей, что значительно повышает их стабильность.

Все эти механизмы были предложены уже давно, но их оказалось недостаточно, чтобы объяснить сохранность биоструктур и биомолекул в течение геологических периодов времени. И на слуху в последнее десятилетие (а особенно — в последние годы) остается весьма необычная гипотеза М. Швейцер с сотрудниками, согласно которой сохранность белков (в основном коллагена) и состоящих из них структур в костях динозавров связана с повышением их устойчивости за счет образования перекрестных молекулярных сшивок в результате окислительных процессов, индуцируемых порфириновым железом гемоглобина (2006–2013 гг.).

Поскольку ионы двухвалентного железа, входящие в состав гемоглобина, могут вступать в окислительную реакцию Фентона, давая на выходе самые реактивные свободные радикалы, то обычно с подобными реакциями связывают только индукцию окисления и распада белков, ДНК и других биомолекул [78, 79, 81, 82], либо — запуск внутриклеточного сигнала к устранению окислительных повреждений генома [103]. Показанная в ряде работ стабилизация белков за счет формирования в них после окисления перекрестных сшивок никак не достигает значений в порядки величин [48, 85].

В связи со сказанным, гипотеза М. Швейцер с соавторами «о чрезвычайной окислительной стабилизации биомолекул» выглядела настолько экзотичной для того,

кто хоть как-то имел дело с окислительными реакциями на уровне молекул, клеток и тканей, что уделять много времени на ее критику не представлялось целесообразным. Именно поэтому в наших предыдущих публикациях [8, 104] (исходно — 2007–2008 гг.) соответствующие критические замечания достаточно кратки и даны только в общих чертах. Уместная, хотя и явно неполная с научных позиций, критика железо-гемоглобиновой гипотезы имела место в креационных источниках [97, 98], а также, недавно, в монографии И. Рухленко [14].

Можно было ожидать, что эта гипотеза вскоре отомрет как нечто не от міра науки. Но время шло, а гипотеза все больше и больше оказывалась на слуху, причем в 2013 г. М. Швейцер с сотрудниками попытались получить ее некое «экспериментальное подтверждение», инкубируя сосуды современного страуса в препарате гемоглобина. В результате они пришли к выводу, что в таком виде срок сохранности сосудов «продлевается в 240 раз». Обсуждение всего этого в научно-популярных публикациях, «научно-просветительных» источниках и в СМИ стало набирать силу, пока мы не увидели, что железо-гемоглобиновую гипотезу озвучивают в очередной серии фильма из цикла «Парк Юрского периода» («Мир Юрского периода», 2015 г.: «Железо в крови выдало радикалы... ДНК может храниться вечно»). Это, так сказать, оказалось последней каплей, переломившей спину верблюда, и в результате в апреле — мае 2016 г. был выполнен настоящий обзор с уже подробным и углубленным рассмотрением построений М. Швейцер и «подтверждающих» их экспериментов. Которые ранее казались не стоящими и выеденного яйца в научном плане и не заслуживающими каких-либо особых комментаторских трудов.

Было закономерно обнаружено, что и в теоретическом, и в практическом аспекте железо-гемоглобиновая гипотеза не соответствует критериям научности для медико-биологических дисциплин (критерии Хилла): ни биологическому правдоподобию, ни накопленным ранее данным и выведенным из них закономерностям, ни экспериментальному подтверждению. Основным аргументом против возможности биомолекул и биоструктур сохраняться в течение «десятков — сотен миллионов лет», помимо здравого смысла, являются накопленные к настоящему моменту данные из оценок и различных экстраполяционных экспериментов разных авторов, согласно которым при положительной температуре определяемая ДНК не может сохраняться и 200.000 лет, а белки — свыше одного миллиона лет. Все такие работы обсуждаются в публикациях М. Швейцер с сотрудниками, но выводы делаются отнюдь не в пользу указанных экспериментов и оценок других авторов.

Оказалось также, что окисленные (в том числе порфириновым железом гемоглобина) белки должны распадаться не медленнее, а быстрее. В случае же ингибирования подобных реакций, концентрации окислителя в крови или костях должны достигать абсурдно высоких значений. Продекларированное М. Швейцер с соавторами образование в белках (в результате опосредованного ионами железа окисления) перекрестных внутри- и межмолекулярных ковалентных сшивок действительно способно удлинять время жизни, к примеру, коллагена, но отнюдь не на два-три порядка, а, согласно соответствующим опытам, всего в 1,5–2 раза. Наконец, имеются сведения о нахождении для ископаемых животных возрастом в «десятки и сотни миллионов лет» биоорганики в таких образцах, в которых заведомо не может быть ни

железа с гемоглобином, ни заменяющей его (в том числе в реакциях окисления) меди в составе гемоцианинов моллюсков.

Рассмотрение «подтверждающего» опыта М. Швейцер с соавторами от 2013 г. с позиции формальных стандартов экспериментальных дисциплин показало, что работа является полудилетантской (если не сказать более), имеет многие элементарные недостатки в методическом и научно-идеологическом плане (в том числе отсутствие адекватного контроля), а полученные результаты не соответствуют сформулированным в ней глобальным выводам. По нашему мнению, в прежние времена такая публикация вряд ли была бы принята и в академический журнал «Биохимия».

Таким образом, можно сделать заключение, что железо-гемоглобиновая гипотеза М. Швейцер с соавторами (2006–2013 г.) научно несостоятельна, и что к настоящему времени отсутствуют какие-либо обоснованные предположения о механизмах, объясняющих сохранность биомолекул и биоструктур в останках с официальными датировками в десятки — сотни миллионов лет. Имеющиеся модельные и экстраполяционные данные таким периодам, напротив, противоречат. Наиболее правдоподобным, поэтому, является предположение, что эти датировки на деле завышены минимум на два-три порядка, что еще раз указывает на относительную молодость Земли [105, 106].

Май 2016 г.

Сноски

[1] Значительного размера — поскольку одни из них имеют иммуногенные свойства, другие узнаются специфическими антителами и даже служат материалом для определения аминокислотной последовательности [3–9]. [Вернуться к тексту]

[2] Открытия в области репарации ДНК. [Вернуться к тексту]

[3] Остеокальцин — низкомолекулярный белок, содержащий большое количество глутаминовой кислоты; специфичен для костей (находится там в комплексе с коллагеном и минеральной составляющей). Жесткая структура молекулы делает белок очень стабильным, в частности, к нагреванию: он не полностью распадается при термообработке в течение более чем 5-ти ч при 165°С. Остеокальцин — один из самых термодинамически стабильных белков животных [4, 8, 51]. [Вернуться к тексту]

[4] Эмпирически полученные кривые распада остеокальина при трех различных высоких температурах (75–95°С) позволили затем экстраполировать период выживания этого белка уже для 10°С [51] (средняя температура при залегании ископаемых остатков в Великобритании [48]). [Вернуться к тексту]

[5] «Есть много вопросов, связанных с доисторическими остатками мягких тканей. Например, почему они сохранились, если все наши модели говорят, что органика должна была давно разложиться? Как на самом деле происходит окаменение?» [Вернуться к тексту]

[6] «Химическая природа такой сохранности все еще неизвестна» («Still unknown is the chemistry behind such preservation»; здесь и далее перевод мой. — А.Л.). [Вернуться к тексту]

[7] «Факторы, влияющие на сохранность [ДНК] в течение геологического времени, не поняты». («...however, factors influencing its preservation over geological time are not well understood».) [Вернуться к тексту]

[8] Число гипотез — по нашему списку, конечно. Возможно, есть какие-то еще, менее известные. [Вернуться к тексту]

[9] Фильм «Мир Юрского периода», 2015 г., США. Самое начало 50-й минуты: «Недавно узнали: ткани сохранились, ведь железо в крови выдало свободные радикалы, а те вступили в реакцию. В общем, белки, клеточные мембраны и прочее стали природными консервантами. Так ДНК может сохраняться вечно» (цитата из дублирования на русский язык). [Вернуться к тексту]

[10] Реакция Фентона: $Fe^{2+} + H_2O_2 = Fe^{3+} + OH^*$ (ион гидроксила) $+ OH^-$. Помимо железа в реакцию могут вступать также и ионы меди (Cu^+) [67, 68]. [Вернуться к тексту]

[11] С этим связали сохранность клеток — эритроцитов и остеоцитов [39, 61]. [Вернуться к тексту]

[12] В публикации от 2013 г. [30] М. Швейцер с соавторами ссылаются на еще один как бы «аналог» — работу того же года, в которой сообщалось о нахождении гема в комплексе с железом в брюшной полости эоценового москита [71]. Но в этом исследовании нет данных о сохранности биоорганики — речь идет только о порфириновой структуре гема. [Вернуться к тексту]

[13] Микроорганизмы утилизуют белки, в том числе коллаген, тоже с помощью протеолитических ферментов [72]. [Вернуться к тексту]

[14] Импакт фактор весьма высок — 5,05 на 2016 г. [Вернуться к тексту]

[15] Ниже представлен только смысл критериев. Конкретные формулировки могут быть разными в различных источниках. [Вернуться к тексту]

[16] РНКаза А; за счет действия 20S протеосомы [78]. [Вернуться к тексту]

[17] Поскольку реакция Фентона может идти, как сказано, не только с ионами железа, но и меди, то аналогичный механизм повышения стабильности белков в раковинах моллюсков (моллюски имеют медь-содержащие порфириновые структуры в составе гемоцианина [84]) также отсутствует. [Вернуться к тексту]

[18] И даже, если гипотеза претендует на универсальность, «сотен миллионов лет» для некоторых находок пигментов, хитина, тканей моллюсков, неокаменевшей кожи динозавров и пр. (см. перечень в [15]). Хотя понятно, что гемоглобин в подобных образцах мог и отсутствовать. [Вернуться к тексту]

[19] Это не так. М. Швейцер цитирует здесь работу Collins M.J. et al., 2002 [54]. Но в другом исследовании, Collins M.J. et al., 2000 [51], сравнивалось как раз время распада остеокальцина в интактных костях и в «реконструкции кости» (подробнее см. выше раздел 2). Кроме того, в классическом обзоре Lindahl T., 1993 [46] приводятся данные об увеличении времени жизни ДНК в комплексе с оксиапатитом. Есть и другие примеры. [Вернуться к тексту]

[20] Авторы [20] на деле провели свою кривую по результатам изучения целых 158-ми различных ископаемых проб. [Вернуться к тексту]

[21] «...are based on extrapolation from degradation under unrealistically harsh chemical conditions, chemical models that overlook the stabilizing influence of close mineral association on molecules, or extrapolation of data from a limited set of fossils and cause reports of molecular recovery from fossils older than 100,000 to be greeted with skepticism» [40]. [Вернуться к тексту]

[22] Напомним, что М. Швейцер с соавторами утверждали, что идентифицировали в костях динозавра даже оригинальную ДНК вместе с гистонами [39]. Сохранность ДНК динозавров также скопом связали с окислительным действием железа гемоглобина, и это построение, как упоминалось выше, уже вошло в последнее голливудское кино «Мир Юрского периода» (2015). Теперь оно точно сохранится в нем вечно. [Вернуться к тексту]

[23] При таком размере фрагмента ДНК нет возможности для его идентификации методом ПЦР [89]. [Вернуться к тексту]

[24] Некоторое исключение представляет уже рассмотренный выше (см. раздел 2) белок костей остеокальцин, являющийся одним из наиболее стойких и термостабильных белков животных (если вообще не самым стойким после прионов [95]). Его распад, согласно [55], произойдет при 10°C за 7,5 млн. лет; оценка для 0°C — 110 млн. лет. Но мягкие ткани, сосуды и костный матрикс состоят из коллагена, а не из сверхстойкого остеокальцина. [Вернуться к тексту]

[25] Прилагаемый к статье [30] материал «Supplemental Information» сейчас, похоже, невозможно найти в Интернете по указанным в [30] веб-адресам. А ведь вся основная методическая информация по получению препарата гемоглобина и инкубации проб помещена там. Откуда оригинал приложения взялся когда-то у автора представленного вам обзора, уже не вспомнить. Но другой желающий ознакомиться сейчас с материалом в оригинале встретится, вероятно, с большими затруднениями. [Вернуться к тексту]

[26] Это все наши предположения; никаких объяснений выбора воды в качестве растворителя в работе [30] и в приложении к ней найти нам не удалось. [Вернуться к тексту]

[27] Наилучшим контролем был бы сам гемоглобин после удаления из него железа, что вполне можно было сделать. Но такие вещи, вероятно, оказались слишком сложными для М. Швейцер с сотрудниками. [Вернуться к тексту]

[28] В гипотонической среде со временем деградируют какие угодно клетки и сосуды. [Вернуться к тексту]

[29] В данном разделе ссылки, за некоторыми исключениями, не приводятся, поскольку их можно найти выше. [Вернуться к тексту]

[30] Статья [100] — на китайском языке. [Вернуться к тексту]

[31] Для работ, доступных в Интернете, приведены адреса. [Вернуться к тексту]

Список источников[31]

1. Розанов А.Ю. Современная палеонтология // Соросовский образовательный журнал. 1999. № 1. С. 47–55. (http://www.pereplet.ru/nauka/Soros/pdf/9901_047.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

2. Стоник В.А. Молекулы свидетельствуют о прошлом // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7. № 3. С. 18–24. (http://window.edu.ru/resource/309/20309/files/0103_018.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

3. Schweitzer M.H. The future of Molecular Paleontology // Palaeontologia Electronica. 2003. V. 5. № 2. (http://palaeo-electronica.org/2002_2/editor/r_and_p.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

4. Лунный А.Н. Противоречие между данными молекулярной палеонтологии и эволюционным представлением о возрасте ископаемых останков. Обзор последних научных исследований // В сб. докл.: «Православное осмысление міра». Материалы XIII международных рождественских образовательных чтений. «Шестодневъ». М., 2005. С. 199–240. (Оригинал версии: «Публичная библиотека Электронные книжные полки Вадима Ершова и К°» http://publ.lib.ru/artchives/L/Lunnyy_Aleksey_Nikolaevich/_Lunnyy_A.N..htm. И др. сайты. Дата обращения 11.04.16.)

5. Smejkal G.B., Schweitzer M.H. Will current technologies enable dinosaur proteomics? // Expert Rev. Proteomics. 2007. V. 4. № 6. P. 695–699. (http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1586/14789450.4.6.695. Дата обращения 11.04.16.)

6. Лунный А.Н. ДНК и живые бактерии возрастом в «десятки — сотни миллионов лет» // В сб. докл.: «Православное осмысление міра и современная наука». Выпуск 5. Материалы XVII международных рождественских образовательных чтений. Отдел религиозного образования и катехизации Русской Православной Церкви. Миссионерско-Просветительский Центр «Шестодневъ». М.: Изд-во «НП МПЦ Шестодневъ», 2009. С. 139–182. (Оригинал версии: «Публичная библиотека Электронные книжные полки Вадима Ершова и К°» http://publ.lib.ru/ARCHIVES/L/LUNNYY_Aleksey_Nikolaevich/_Lunnyy_A.N..html. И др. сайты. Дата обращения 11.04.16.)

7. Лунный А.Н. Трудный путь признания тканей, сосудов, клеток и фрагментов коллагена в костях динозавров // В сб.: «Современное христианство и естественные

науки: матер. докл. научно-богословского семинара», Кировск, 3–4 ноября 2009 г. Апатиты: «К&М», 2009. С. 41–53. (Оригинал версии: «Публичная библиотека Электронные книжные полки Вадима Ершова и К°» http://publ.lib.ru/ARCHIVES/L/LUNNYY_Aleksey_Nikolaevich/_Lunnyy_A.N..html. И др. сайты. Дата обращения 11.04.16.)

8. Лунный А.Н. Молекулярно-клеточная палеонтология на 2007 год: свидетельства о малом возрасте земли // В сб.: «Божественное откровение и современная наука». Альманах. Выпуск 3. Под ред. Н. Колчуринского. — М.: ООО «Три сестры», 2011. С. 93–152. (Оригинал версии: «Публичная библиотека Электронные книжные полки Вадима Ершова и К°» http://publ.lib.ru/ARCHIVES/L/LUNNYY_Aleksey_Nikolaevich/_Lunnyy_A.N..html. И др. сайты. Дата обращения 11.04.16.)

9. Лунный А.Н. Оригинальные мягкие ткани, сосуды, клетки и коллаген динозавров все-таки подтверждаются: независимая экспертиза 2009 года // В сб.: «Креационизм и его значения для образования, науки и общества». Матер. Межд. научно-практ. конф. Петрозаводск, 14–15 октября 2010 г. Петрозаводск, 2011. С. 26–42. (Оригинал версии: «Публичная библиотека Электронные книжные полки Вадима Ершова и К°» http://publ.lib.ru/ARCHIVES/L/LUNNYY_Aleksey_Nikolaevich/_Lunnyy_A.N..html. И др. сайты. Дата обращения 11.04.16.)

10. Колчуринский Н.Ю. Сотворение или эволюция? — Ответ в палеонтологическом музее им. Орлова (Москва) // Сайт «Слово отеческое» (http://www.slovotech.narod.ru/makepeace_14.htm; дата обращения 11.05.2016); «Слово». Православный образовательный портал. (http://plopin.ru/impressionism/42839.html; дата обращения 11.05.2016.)

11. Колчуринский Н. Здравствуйте, динозавры! // Сайт «Православие.ру». (http://www.pravoslavie.ru/37609.html; дата обращения 11.05.2016.)

12. Колчуринский Н.Ю. Эволюционные легенды и правда о динозаврах // В кн.: «Православная русская школа: традиции, опыт, возможности, перспективы: опыт гимназии-пансиона Свято-Алексеевской Пустыни памяти протоиерея Василия Лесняка: сб. матер. VII научно-практической образовательной конференции (28 апреля — 3 мая 2014 г.). Под ред. А.Н. Василенко, Л.В. Байбородовой, Т.С. Лебедевой. — Ярославль: ИД «Канцлер», 2015. С. 111–121. Аналогичный материал: В сб.: «Божественное откровение и современная наука». Альманах. Выпуск 4. — М.: «Три сестры». 2016. С. 133–145. См. также на сайте «Слово Отеческое». (http://www.slovotech.narod.ru/dino.pdf; дата обращения 11.05.2016.)

13. Колчуринский Н.Ю. Данные палеонтологии в наступлении против теории эволюции // Образовательный портал «Слово». Раздел «Естествознание». 09.02.2016. (http://www.portal-slovo.ru/impressionism/48575.php?sphrase_id=110148; дата обращения 17.05.2016)

14. Рухленко И.А. Что ответить дарвинисту? Часть 2. — Montreal: Изд-во Accent Graphics Communications, 2015. — 312 с. (PDF; https://mybook.ru/author/ilya-ruhlenko/chto-otvetit-darvinistu-chast-ii/. Дата обращения 14.04.16.)

15. Thomas B. Published reports of original soft tissue fossils // Institute for Creation Research. 2011. (http://www.icr.org/soft-tissue-list/. Дата обращения 11.04.16.)

16. Швейцер М. Кровь в камне // В мире науки (МГУ). 2011. № 2. С. 40–49. Перевод обзора из журнала «Scientific American» (Schweitzer M.H. Blood from stone: How fossils can preserve soft tissue // Scientific American. 2010. V. 303. № 6. P. 62–69.)

17. Schweitzer M.H. Soft tissue preservation in terrestrial mesozoic vertebrates // Annu. Rev. Earth Planet. Sci. 2011. V. 39. P. 187–216.

18. San Antonio J.D., Schweitzer M.H., Jensen S.T. et al. Dinosaur peptides suggest mechanisms of protein survival // PLoS ONE. 2011. V. 6. № 6. e20381. (http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371%2Fjournal.pone.0020381.PDF. Дата обращения 11.04.16.)

19. Lindgren J., Uvdal P., Engdahl A. et al. Microspectroscopic evidence of cretaceous bone proteins // PLoS ONE. 2011. V. 6. № 4. e19445. http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371%2Fjournal.pone.0019445.PDF. Дата обращения 11.04.16.)

20. Allentoft M.E., Collins M., Harker D. et al. The half-life of DNA in bone: measuring decay kinetics in 158 dated fossils // Proc. Biol. Sci. 2012. V. 279. № 1748. P. 4724–4733. (http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/royprsb/early/2012/10/05/rspb.2012.1745.full.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

21. Cleland TP., Voegele K, Schweitzer MH. Empirical evaluation of bone extraction protocols // PLoS ONE. 2012. V. 7. № 2. e31443. (http://journals.plos.org/plosone/article/asset?id=10.1371%2Fjournal.pone.0031443.PDF. Дата обращения 11.04.16.)

22. Cadena E., Schweitzer MH. Variation in osteocyte morphology vs bone type in turtle shell and their exceptional preservation from the Jurassic to the present // Bone. 2012. V. 51. № 3. P. 614–620.

23. McNamara M. et al. Organic preservation of fossil musculature with ultracellular detail // Proc. R. Soc. B. 2010. V. 277. № 1680. P. 423–427. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2842642/pdf/rspb20091378.pdf. Дата обращения 18.04.16.)

24. O'Malley C.E., Ausich W.I, Chin Y.P. Isolation and characterization of the earliest taxon-specific organic molecules (Mississippian, Crinoidea) // Geology. 2013. V. 41. № 3. P. 347–341.

25. Armitage M.H., Anderson K.L. Soft sheets of fibrillar bone from a fossil of the supraorbital horn of the dinosaur Triceratops horridus // Acta Histochemica. 2013. V. 115. № 6. P. 603–608.

26. Orlando L., Ginolhac A., Zhang G. et al. Recalibrating Equus evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse // Nature. 2013. V. 499. № 7456. P. 74–78.

27. Bertazzo S., Maidment S.C.R., Kallepitis C. et al. Fibres and cellular structures preserved in 75-million–year-old dinosaur specimens // Nature Communications. 2015. V. 6. s8352. (http://www.nature.com/ncomms/2015/150609/ncomms8352/pdf/ncomms8352.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

28. Pawlicki H., Korbel A., Kubiak H. Cells, collagen fibrils and vessels in dinosaur bone // Nature. 1966. V. 211. № 5049. P. 655–657.

29. Pawlicki R., Nowogrodzka-Zagorska M. Blood vessels and red blood cells preserved in dinosaur bones // Ann. Anat. 1998. V. 180. № 1. P. 73–77.

30. Schweitzer M.H., Zheng W., Cleland T.P. et al. A role for iron and oxygen chemistry in preserving soft tissues, cells and molecules from deep time // Proc. Biol. Sci. 2013. V. 281. № 1775. 20132741. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3866414/pdf/rspb20132741.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

31. Schweitzer M.H., Marshall M., Carron K. et al. Heme compounds in dinosaur trabecular bone // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1997. V. 94. № 12. P. 6291–6296. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC21042/pdf/pq006291.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

32. Schweitzer M.H., Staedter T. The real Jurassic Park // Earth. 1997. V. 6. № 3. P. 55–57.

33. Schweitzer M.H., Wittmeyer J.L., Horner J.R., Toporski J.K. Soft-tissue vessels and cellular preservation in Tyrannosaurus rex // Science. 2005. V. 307. № 5717. P. 1952–1955.

34. Schweitzer M.H., Wittmeyer J.L., Horner J.R. Gender-specific reproductive tissue in ratites and Tyrannosaurus rex // Science. 2005. V. 308. № 5727. P. 1456–1460.

35. Schweitzer M.H., Suo Z., Avci R. et al. Analyses of soft tissue from Tyrannosaurus rex suggest the presence of protein // Science. 2007. V. 316. № 5822. P. 277–280.

36. Asara J.M., Schweitzer M.H., Freimark L.M. et al. Protein sequences from mastodon and Tyrannosaurus rex revealed by mass spectrometry // Science. 2007. V. 316. № 5822. P. 280–285.

37. Asara J.M., Garavelli J.S., Slatter D.A. et al. Interpreting sequences from mastodon and T. rex // Science. 2007. V. 317. № 5843. P. 1324–1325.

38. Schweitzer M. H., Zheng W., Organ C.L. et al. Biomolecular characterization and protein sequences of the Campanian Hadrosaur B. Canadensis // Science. 2009. V. 324. № 5927. P. 626–631.

39. Schweitzer M.H., Zheng W., Cleland T.P., Bern M. Molecular analyses of dinosaur osteocytes support the presence of endogenous molecules // Bone. 2013. V. 52. № 1. P. 414–423.

40. Schweitzer M.H., Schroeter E.R., Goshe M.B. Protein molecular data from ancient (>1 million years old) fossil material: pitfalls, possibilities and grand challenges // Anal. Chem. 2014. V. 86. № 14. P. 6731–6340.

41. Cleland T.P., Schroeter E.R., Zamdborg L. et al. Mass spectrometry and antibody-based characterization of blood vessels from Brachylophosaurus Canadensis // J. Proteome Res. 2015. V. 14. № 12. P. 5252–5562.

42. Schweitzer M.H., Moyer A.E., Zheng W. Testing the hypothesis of biofilm as a source for soft tissue and cell-like structures preserved in dinosaur bone // PLoS One. 2016. V. 11. № 2. e0150238. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4771714/pdf/pone.0150238.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

43. Schweitzer M.H., Zheng W., Zanno L. et al. Chemistry supports the identification of gender-specific reproductive tissue in Tyrannosaurus rex // Sci. Rep. 2016. V. 6. 23099. doi: 10.1038/srep23099. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4791554/. Дата обращения 11.04.16.)

44. Norris S. Many Dino Fossils Could Have Soft Tissue Inside // National Geographic News. February 22, 2006. (http://news.nationalgeographic.com/news/2006/02/0221_060221_dino_tissue.html. Дата обращения 11.04.16.)

45. Ambler R.P., Daniel M. Proteins and molecular palaeontology // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. B. 1991. V. 333. № 1268. P. 381–389.

46. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA // Nature. 1993. V. 362. № 6422. P. 709–715.

47. Lindahl T. Recovery of antediluvian DNA // Nature. 1993. V. 365. № 6448. P. 700.

48. Collins M.J., Riley M.S., Child A.M., Turner-Walker G. A basic mathematical simulation of the chemical degradation of ancient collagen // J. Archaeol. Sci. 1995. V. 22. № 2. P. 175–183.

49. Collins M.J., Waite E.R., van Duin A.C.T. Predicting protein decomposition: the case of aspartic-acid racemization kinetics // Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 1999. V. 354. № 1379. P. 51–64. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1692455/pdf/10091247.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

50. Bada J.L., Wang X.S., Hamilton H. Preservation of key biomolecules in the fossil record: current knowledge and future challenges // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1999. V. 354. № 1379. P. 77–86. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1692449/pdf/10091249.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

51. Collins M.J., Gernaey A.M., Nielsen-Marsh C.M. et al. Slow rates of degradation of osteocalcin: Green light for fossil bone protein? // Geology. 2000. V. 28. № 12. P. 1139–1142.

52. Hofreiter M., Serre D., Poinar H.N. et al. Ancient DNA // Nat. Rev. Genet. 2001. V. 2. № 5. P. 353–359.

53. Smith C.I., Chamberlain A.T., Riley M.S. et al. Neanderthal DNA. Not just old, but old and cold // Nature. 2001. V. 410. № 6830. P. 771–772.

54. Collins M.J., Nielsen-Marsh C.M., Hiller J. et al. The survival of organic matter in bone: a review // Archaeometry. 2002. V. 44. № 3. P. 383–394. (http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1475-4754.t01-1-00071/pdf. Дата обращения 11.04.16.)

55. Nielsen-Marsh C. Biomolecules in fossil remains. Multidisciplinary approach to endurance // The Biochemist (Journal of The Biochemical Society). June 2002. P. 12–14. (http://www.biochemist.org/bio/02403/0012/024030012.pdf. Дата обращения 11.04.16.)

56. Tuross N. The biochemistry of ancient DNA in bone // Experientia. 1994. V. 50. № 6. P. 530–535.

57. Tuross N., Stathoplos L. Ancient proteins in fossil bones // Methods in Enzymology. 1993. V. 224. P. 121–129.

58. Lees S. Some characteristics of mineralised collagen // In: ‘Calcified tissue: topics in molecular and structural biology’. Ed by D.W. Hukins. — London: Macmillan, 1989. P. 153–173.

59. Collins M.J., Galley P. Towards an optimal method of archaeological collagen extraction: the influence of pH and grinding // Ancient Biomolecules. 1998. V. 2. P. 209–222.

60. Paleontologist presents theories of fossil preservation at AAAS // Bulletin Online. News for the North Carolina State University Community. 02.24.2006. (http://www.ncsu.edu/BulletinOnline/02_06/AAASfollow.htm. В настоящее время не в свободном доступе.)

61. Schweitzer M.H., Wittmeyer J.L., Horner J.R. Soft tissue and cellular preservation in vertebrate skeletal elements from the Cretaceous to the present // Proc. Biol. Sci. 2007. V. 274. № 1607. P. 183–197.

62. Как мягкие ткани тираннозавра сохранились до наших дней // PaleoNews. 28.11.2013. (http://paleonews.ru/index.php/new/258-tyrannosaurus-meat. Дата обращения 11.04.16.)

63. Железо помогает белкам сохраняться в костях динозавров, считают ученые // РИА НОВОСТИ. РИА Наука. 27.11.2013. (http://ria.ru/studies/20131127/979938606.html. Дата обращения 11.04.16.)

64. Iron is the key to preserving dinosaur soft tissue // Berkeley Lab. Lawrence Berkeley National Laboratory. Advances Light Sources. 21 August 2014. (https://www-als.lbl.gov/index.php/science-highlights/science-highlights/951-iron-is-the-key-to-preserving-dinosaur-soft-tissue.html. Дата обращения 11.04.16.)

65. Dinosaur soft tissue and Iron as a preservative // RationalScepticism.org. Oct 15, 2015. (http://www.rationalskepticism.org/creationism/dinosaur-soft-tissue-and-iron-as-a-preservative-t50782.html. Дата обращения 11.04.16.)

66. Динозавры // Википедия. Версия от 04.04.16. (https://ru.wikipedia.org/wiki/Динозавры. Дата обращения 11.04.16.)

67. Stadtman E.R. Role of oxidized amino acids in protein breakdown and stability // Methods Enzymol. 1995. V. 258. P. 379–393.

68. Beckman K.B., Ames B.N. The free radical theory of aging matures // Physiol. Rev. 1998. V. 78. № 2. P. 547–581. (http://physrev.physiology.org/content/78/2/547.full-text.pdf+html. Дата обращения 13.04.16.)

69. Petrovich R. Mechanisms of fossilization of the soft bodied and lightly armored faunas of the Burgess Shale and of some other classical localities // Am. J. Sci. 2001. V. 301. P. 683–726.

70. Lalonde K., Mucci A., Ouellet A., Gelinas Y. Preservation of organic matter in sediments promoted by iron // Nature. 2012. V. 483. № 7388. P. 198–200.

71. Greenwalt D.E., Goreva Y.S., Siljeström S.M. et al. Hemoglobin-derived porphyrins preserved in a Middle Eocene blood-engorged mosquito // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2013. V. 110. № 46. P. 18496–18500. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3831950/pdf/pnas.201310885.pdf. Дата обращения 13.04.16.)

72. Zhang Y.Z., Ran L.Y., Li C.Y., Chen X.L. Diversity, structures, and collagen-degrading mechanisms of bacterial collagenolytic proteases // Appl. Environ. Microbiol. 2015. V. 81. № 18. P. 6098–6107. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542243/pdf/zam6098.pdf. Дата обращения 13.04.16.)

73. Ярмоненко С.П. Радиобиология человека и животных. 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Высш. шк., 1988. — 424 с.

74. Bradford Hill A. The environment and disease: association or causation? // Proc. R. Soc. Med. 1965. V. 58. P. 295–300.

75. Hofmann B., Holm S., Iversen J.-G. Philosophy of science. In: ‘Research methodology in the medical and biological sciences’. Ed. by P. Laake, H.B. Benestad, B.R. Olsen. Academic Press, Elsevier, 2007. P. 1–32.

76. Campbell L.A., Kodadek T., Brown K.C. Protein cross-linking mediated by metalloporphyrins // Bioorg. Med. Chem. 1998. V. 6. № 8. P. 1301–1307.

77. Miller Y. I., Shaklai N. Oxidative cross-linking of LDL protein induced by hemin: involvement of tyrosines // Biochem. Mol. Biol. Int. 1994. V. 34. № 6. P. 1121–1129.

78. Lasch P., Petras T., Ullrich O. et al. Hydrogen peroxide-induced structural alterations of RNAse A // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. № 12. P. 9492–9502. (http://www.jbc.org/content/276/12/9492.full.pdf+html. Дата обращения 13.04.16.)

79. Dunlop R.A., Rodgers K.J., Dean R.T. Recent developments in the intracellular degradation of oxidized proteins // Free Radic. Biol. Med. 2002. V. 33. № 7. P. 894–906.

80. Liu Y., Sun G., David A., Sayre L.M. Model studies on the metal-catalyzed protein oxidation: structure of a possible His-Lys cross-link // Chem. Res. Toxicol. 2004. V. 17. № 1. P. 110–118.

81. Davies K.J., Goldberg A.L. Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells. J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 17. P. 8227–8234.

82. Davies K.J. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 20. P. 9895–9901

83. Petri B.G., Watts R.J., Teel A.L. et al. Fundamentals of ISCO using hydrogen peroxide // In: «In situ chemical oxidation for groundwater remediation», ed. by R.L. Siegrist, M. Crimi, T.J. Simpkin, Springer Science + Business Media, LLC 2011, P. 33–88. (http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4419-7826-4_2#page-1. Дата обращения 13.04.16.)

84. Markl J. Evolution of molluscan hemocyanin structures // Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1834. № 9. P. 1840–1852.

85. Monnier V.M., Glomb M., Elgawish A., Sell D.R. The mechanism of collagen cross-linking in diabetes: a puzzle nearing resolution // Diabetes. 1996. V. 45 Suppl 3. P. S67–S72.

86. Игнатьева Н.Ю., Данилов Н.А., Лунин В.В. и др. Изменение термодинамических характеристик денатурации коллагена тканей глаза в результате неферментативной гликации // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. 2007. Т. 48. № 2. С. 75–79. (http://www.chem.msu.su/rus/vmgu/072/75.pdf. Дата обращения 18.04.16.)

87. Okada T., Hayashi T.,Ikada Y. Degradation of collagen suture in vitro and in vivo // Biomaterials. 1992. V. 13. № 7. P. 448–454.

88. Nielsen Marsh C.M., Ostrom P.H., Gandhi H. et al. Sequence preservation of osteocalcin protein and mitochondrial DNA in bison bones older than 55 ka // Geology. 2002. V. 30. № 12. P. 1099–1102. (https://pgl.soe.ucsc.edu/osteo_neMarsh02.pdf. Дата обращения 14.04.16.)

89. Основы полимеразной цепной реакции (ПЦР). Методическое пособие (ДНК-технология). — М., 2012. — 80 с. (http://www.dna-technology.ru/files/images/metodichki/OsnoviPCR.pdf. Дата обращения 14.04.16.)

90. Hedges R.E.M., Millard A.R. Bones and groundwater: towards the modelling of diagenetic processes // J. Archaeol. Sci. 1995. V. 22. № 2. P. 155–164.

91. Kaplan M. DNA has a 521-year half-life [at 13.1°C]: genetic material can't be recovered from dinosaurs — but it lasts longer than thought // Nature News, 10 October 2012. (http://www.nature.com/news/dna-has-a-521-year-half-life-1.11555. Дата обращения 18.04.16.)

92. Gutteridge J.M.C. Free radical damaged to lipids, amino acid, carbohydrates and nucleic acids determined by thiobarbituric acid reactivity // Int. J. Biochem. 1982. V. 14. № 7. P. 649–653.

93. Yeoman B. Schweitzer's dangerous discovery // Discover. 2006. V. 27. № 4. P. 37–41. (http://discovermagazine.com/2006/apr/dinosaur-dna. Дата обращения 18.04.16.)

94. Karam P.A., Leslie S.A. Calculations of background beta-gamma radiation dose through geologic time // Health Phys. 1999. V. 77. № 6. P. 662–667.

95. Stu. B. Prions Research ascelerates // Chem. and Eng. News. 1998. V. 76. № 6. P. 22–29.

96. Taverna M., Marie A.-L., Mira J.-P., Guidet B. Specific antioxidant properties of human serum albumin // Ann. Intensive Care. 2013. V. 3. № 1. Article 4. (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3577569/pdf/2110-5820-3-4.pdf. Дата обращения 14.04.16.)

97. Smith C. Dinosaur soft tissue. In seeming desperation, evolutionists turn to iron to preserve the idea of millions of years // Creation Ministries International. 28.01.2014. (http://creation.com/dinosaur-soft-tissue. Дата обращения 18.04.16.) Смит К. Мягкие ткани динозавров. Отчаянно пытаясь сохранить идею о миллионах лет, эволюционисты обратились к железу. Перевод А. Калько // http://creation.com/dinosaur-soft-tissue-russian. Дата обращения 18.04.16.)

98. Thomas B. Dinosaur Soft Tissue Preserved by Blood? // Institute for Creation Research. 2013. (http://www.icr.org/article/dinosaur-soft-tissue-preserved-by-blood/. Дата обращения 11.04.16.)

99. Woodward S.R., Weyand N.J., Bunnell M. DNA sequence from Cretaceous period bone fragments // Science. 1994. V. 266. № 5188. P. 1229–1232.

100. Li Y, An C-C, Zhu Y-X. DNA isolation and sequence analysis of dinosaur DNA from Cretaceous dinosaur egg in Xixia Henan, China // Acta Sci. Nat. Univ. Pekinensis. 1995. V. 31. № 2. P. 148–152.

101. Hebsgaard M.B., Phillips M.J., Willerslev E. Geologically ancient DNA: fact or artefact? // Trends Microbiology. 2005. V. 13. № 5. P. 212–220.

102. Hedges S.B., Schweitzer M.H. Detecting dinosaur DNA; Zischler H. et al. Detecting dinosaur DNA // Science. 1995. V. 268. № 5214. P. 1191–1193.

103. Azzam E.I., De Toledo S.M., Spitz D.R., Little J.B. Oxidative metabolism modulates signal transduction and micronucleus formation in bystander cells from alpha-particle-irradiated normal human fibroblast cultures // Cancer Res. 2002. V. 62. P. 5436–5442. (http://cancerres.aacrjournals.org/content/62/19/5436.full.pdf+html. Дата обращения 18.04.16.)

104. Лунный А.Н. Костный мозг, хранившийся «10 миллионов лет», еще кости динозавров с сосуда-ми и эритроцитами, запах от останков возрастом «около 70 миллионов лет», мумии динозавров и прочее. Находки становятся обыденностью. В кн.: «Православное осмысление творения міра». Выпуск 3. М.: Изд-во «Шестодневъ», 2007. С. 156–201. (Оригинал версии: «Публичная библиотека Электронные книжные полки Вадима Ершова и К°» http://publ.lib.ru/ARCHIVES/L/LUNNYY_Aleksey_Nikolaevich/_Lunnyy_A.N..html. И др. сайты. Дата обращения 11.04.16.)

105. Серафим (Роуз), иеромонах. Православное понимание книги Бытия. М., 1998. (http://www.goldentime.ru/hrs_rose_1.htm. Дата обращения 18.04.16.)

106. Серафим (Роуз), иеромонах. Бытие: сотворение мира и первые ветхозаветные люди. Братство Преподобного Германа Аляскинского. Платина, Калифорния. М.: Валаамское общество Америки, 2004. — 704. (http://azbyka.ru/otechnik/Serafim_Rouz/bytie-sotvorenie-mira-i-pervye-vetkhozavetnye-ljudi/. Дата обращения 18.04.16.)